



Ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Para exportación de EE.UU. solamente.

Información general 2

Uso previsto 2
Resumen y explicación de la prueba 2
Principios del procedimiento 3
Advertencias y precauciones 4
Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos 6
Recogida y almacenamiento de muestras 8

Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente 38

Limitaciones 41

Resultados del estudio clínico 43

Valores esperados de los sistemas DTS 44
Rendimiento clínico en sistemas DTS 47
Concordancia de las muestras clínicas del TIGRIS DTS System. 63
Rendimiento analítico del TIGRIS DTS System 67
Rendimiento analítico del sistema PANTHER 71

Bibliografía 73



Sistemas DTS 10

Reactivos y materiales suministrados 10
Material necesario que debe adquirirse por separado ..12
Materiales opcionales 13

Procedimiento de prueba de los sistemas DTS 13

Notas de procedimiento...19

TIGRIS DTS System.. 23

Reactivos y materiales suministrados 23
Material necesario que debe adquirirse por separado ..24
Materiales opcionales 26

Procedimiento de prueba del TIGRIS DTS System.......26

Notas de procedimiento 29

PANTHER

Sistema PANTHER 31

Reactivos y materiales suministrados 31
Material necesario que debe adquirirse por separado ..32
Materiales opcionales 33

Procedimiento de prueba del sistema PANTHER 33

Notas de procedimiento...36

Información general

Uso previsto

El ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA es una prueba de sonda de ácido nucleico de amplificación seleccionada que utiliza captura seleccionada para la detección cualitativa *in vitro* de RNA ribosómico (ribosomal RNA, rRNA) de *Neisseria gonorrhoeae* (GC) para ayudar en el diagnóstico de la enfermedad urogenital gonocócica utilizando el TIGRIS DTS System o el sistema PANTHER o utilizando la instrumentación semiautomatizada de los sistemas DTS según se especifique. El ensayo se puede utilizar para analizar los siguientes muestras de individuos sintomáticos: muestras de torunda endocervical, vaginal y uretral masculina recogidas por el clínico, y muestras de orina masculina y femenina. El ensayo se puede utilizar para analizar las siguientes muestras de individuos asintomáticos: muestras de torunda endocervicales y vaginales recogidas por el clínico, muestras de torunda vaginal recogidas por la paciente[1], y muestras de orina masculina y femenina. Este ensayo también está indicado para utilizarse en el análisis de muestras ginecológicas de pacientes tanto sintomáticas como asintomáticas. Estas muestras de cuello uterino, recolectadas en viales de solución PreservCyt, pueden analizarse antes o después de procesar la citología. El análisis de las muestras procesadas después de la citología se limita a las muestras procesadas con el sistema ThinPrep 2000 exclusivamente.

[1] Las muestras de torunda vaginal recogidas por la paciente son una opción para el cribado de mujeres cuando el examen pélvico no está indicado. El kit de recogida de muestras de torunda vaginal no es para uso doméstico.

Resumen y explicación de la prueba

Las infecciones por *Neisseria gonorrhoeae* se cuentan entre las infecciones de transmisión sexual más comunes en todo el mundo. Solamente en Estados Unidos, se calcula que se comunicaron 309.341 casos nuevos (100,8 por cada 100.000 personas) de infecciones por GC a los Centros para el control de enfermedades en 2010 (2).

N. gonorrhoeae es el agente causante de la enfermedad gonorreica. *Neisseria* son diplococos gram-negativos inmóviles. La mayoría de las infecciones gonorréicas son infecciones del tracto genital inferior sin complicaciones y pueden ser asintomáticas. Sin embargo, si se dejan sin tratamiento en las mujeres, las infecciones pueden ascender y provocar enfermedad inflamatoria pélvica (EIP). La enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) se puede manifestar como endometritis, salpingitis, peritonitis pélvica y abscesos tubo-ováricos. Un porcentaje más pequeño de personas con infecciones gonocócicas podrían desarrollar infección gonocócica diseminada (IGD) (8, 11).

El diagnóstico convencional de infección por GC requiere aislar el organismo en un medio selectivo o la observación de los diplococos en frotis con tinción de Gram (9). Los métodos de cultivo pueden tener una buena sensibilidad clínica, pero dependen en gran medida de la correcta manipulación de las muestras. Un almacenamiento y transporte incorrectos de la muestra puede provocar la pérdida de la viabilidad del organismo y producir resultados negativos falsos. Además, una técnica de obtención de muestras deficiente, materiales tóxicos de recogida de muestras y la inhibición del crecimiento por componentes de las secreciones corporales pueden provocar también resultados negativos falsos (3, 10). Los métodos no de cultivo más utilizados en la detección de GC incluyen pruebas de sonda de DNA directas y pruebas de amplificación de ácido nucleico (nucleic acid amplification test, NAAT).

La primera generación de NAAT para GC tiene problemas tecnológicos que han limitado su rendimiento. Estos problemas incluyen el laborioso procesamiento de las muestras y la inhibición de la muestra, lo que puede provocar resultados negativos falsos (6). El ensayo de

Neisseria gonorrhoeae APTIMA (ensayo APTIMA GC) es una NAAT de segunda generación que utiliza las tecnologías de captura seleccionada, amplificación mediada por transcripción (Transcription-Mediated Amplification, TMA) y el ensayo de protección de la hibridación (Hybridization Protection Assay, HPA) para simplificar el procesamiento de las muestras, amplificar el rRNA seleccionado y detectar el amplicón, respectivamente Ciertos estudios de comparación del rendimiento y la inhibición de muestras en distintos sistemas de amplificación han demostrado los beneficios de las tecnologías de captura seleccionada, TMA y HPA (4, 7).

De acuerdo con las directrices de cribado de 2002 para *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, los CDC recomiendan una serie de opciones para el seguimiento en una prueba de cribado positiva «si se puede esperar un valor predictivo positivo bajo o si un resultado positivo falso tendría graves consecuencias psicosociales o legales» (1). Una de estas opciones para pruebas adicionales puede ser una prueba de amplificación de ácido nucleico aprobada por la FDA diferente que utilice una diana diferente a la de la prueba inicial. El ensayo APTIMA GC y el APTIMA COMBO 2 seleccionan ambos la subunidad 16S rRNA para captura y detección. La sonda de captura es la misma para los dos ensayos, pero el ensayo APTIMA GC reconoce una región de la subunidad 16S rRNA diferente que el ensayo APTIMA COMBO 2 para la detección.

Principios del procedimiento

El ensayo APTIMA GC combina las tecnologías de captura seleccionada, TMA y HPA.

Las muestras se recogen y transfieren a sus respectivos tubos de transporte. La solución de transporte en estos tubos libera el rRNA diana y lo protege de la degradación durante el almacenamiento. Cuando el ensayo APTIMA GC se realiza en el laboratorio, la molécula de rRNA diana se aísla de las muestras mediante el uso de un oligómero de captura a través de un proceso de captura seleccionada que utiliza micropartículas magnéticas. El oligómero de captura contiene una secuencia complementaria a una región específica de la molécula diana, así como una cadena de residuos de deoxiadenosina. Durante el paso de hibridación, la región específica de la secuencia del oligómero de captura se une a una región específica de la molécula seleccionada. El complejo oligómero de captura:diana se captura y extrae a continuación de la solución mediante la reducción de la temperatura de la reacción hasta alcanzar la temperatura ambiente. Esta reducción de temperatura permite que se produzca la hibridación entre la región de la deoxiadenosina del oligómero de captura y las moléculas de polideoxitimidina que están unidas covalentemente a las partículas magnéticas. Las micropartículas, incluidas las moléculas diana capturadas unidas a ellas, se desplazan al lateral del tubo de reacción utilizando imanes y se aspira el sobrenadante. Las partículas se lavan para eliminar la matriz de muestras residual que puede contener inhibidores de la reacción de amplificación. Una vez finalizados los pasos de captura seleccionada, las muestras están listas para la amplificación.

Los ensayos de amplificación seleccionada se basan en la capacidad de los cebadores de oligonucleótidos complementarios para anilar de forma específica y permitir la amplificación enzimática de las cadenas de ácido nucleico seleccionadas. La reacción TMA de Gen-Probe replica una región específica del 16S rRNA de GC a través de intermediarios de DNA. Se utiliza un solo juego de cebadores para cada molécula seleccionada. La detección de las secuencias de producto de amplificación de rRNA (amplicón) se logra mediante la hibridación del ácido nucleico. Una sonda de DNA quimioluminiscente monocatenaria, que es complementaria a una región del amplicón seleccionado, se marca con una molécula de éster de acridinio. La sonda DNA marcada se combina con el amplicón para formar híbridos RNA:DNA estables. El reactivo de selección diferencia la sonda hibridada de la no hibridada, eliminando la generación de señal de la sonda no hibridada. Durante el paso de detección, la luz emitida por los híbridos RNA:DNA marcados se mide como señales de fotones en un luminómetro, y se notifican como unidades relativas de luz (Relative Light Units, RLU).

Advertencias y precauciones

A. Para uso diagnóstico *in vitro*.

B. Para advertencias, precauciones y procedimientos adicionales específicos para el control de la contaminación del TIGRIS DTS System, consulte el *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual del usuario del TIGRIS DTS System)*.

C. Para advertencias, precauciones y procedimientos adicionales específicos para el control de la contaminación del sistema PANTHER, consulte el *PANTHER System Operator's Manual (Manual del usuario del sistema PANTHER*).

Información para los laboratorios

D. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.

E. Tome las precauciones habituales del laboratorio. No coma, beba ni fume en las áreas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin talco, protección para los ojos y batas de laboratorio al manipular las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.

F. **Advertencia: Irritantes, corrosivos.** Evite el contacto de Auto Detect 1 y Auto Detect 2 con la piel, los ojos y las mucosas. Si estos fluidos entran en contacto con la piel o los ojos, lávelos con agua. Si se produce un derrame de estos fluidos, diluya el derrame con agua antes de secarlo.

G. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5% al 3,5% (0,35 M a 0,5 M).

Información de los sistemas DTS

H. Para reducir al mínimo la contaminación por amplicones en el ensayo, se recomienda encarecidamente utilizar un área aparte para el HPA. Este área dedicada debe estar separada de las áreas de preparación del reactivo, de captura seleccionada y de amplificación.

I. Para evitar que las áreas del laboratorio se contaminen con amplicones, dichas áreas deben organizarse con un flujo de trabajo unidireccional: de la preparación del reactivo al HPA. Las muestras, equipos y reactivos no deben devolverse al área donde se realizó un paso anterior. Además, el personal no debe volver a las áreas de trabajo anteriores sin tomar las medidas de precaución adecuadas contra la contaminación.

Información para las muestras

J. Para la recogida de muestras de torunda endocervical y uretral masculina, utilice sólo el kit de recogida de muestras de torunda unisex APTIMA para dichas muestras. Para la recogida de muestras de orina, utilice sólo el kit de recogida de muestras de orina APTIMA para muestras de orina masculina y femenina. Para muestras de torunda vaginal recogidas por el clínico y por la paciente, utilice sólo el kit de recogida de muestras de torunda vaginal APTIMA.

K. Las fechas de caducidad que figuran en los kits de recogida son válidas para el centro de recogida y no para el laboratorio de análisis. Las muestras recogidas en cualquier momento antes de la fecha de caducidad del kit de recogida, y transportadas y

almacenadas de acuerdo con el prospecto, son válidas para el análisis aún cuando haya pasado la fecha de caducidad en el tubo de recogida.

L. La solución PreservCyt se ha validado como medio alternativo para el análisis con el ensayo APTIMA GC. Las muestras de Pap en medio líquido PreservCyt procesadas con el procesador ThinPrep 3000 u otros instrumentos no se han evaluado en pruebas de detección de *Neisseria gonorrhoeae* con el ensayo APTIMA GC.

M. Después de añadir la orina, el nivel de líquido en el tubo de transporte de orina debe estar entre las dos líneas indicadoras negras de la etiqueta del tubo. De lo contrario, la muestra debe rechazarse.

N. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar la integridad de las mismas. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.

O. Las muestras pueden ser infecciosas. Tome las precauciones universales al realizar este ensayo. El director del laboratorio debe establecer métodos de manipulación y eliminación adecuados. Sólo se debería permitir realizar este procedimiento de diagnóstico a personal con la formación debida para manipular materiales infecciosos.

P. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de organismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con la muestra.

Q. Si el laboratorio recibe un tubo de trasporte de muestra en torunda con ninguna torunda, dos torundas, una torunda de limpieza o una torunda no suministrada por Gen-Probe, la muestra debe rechazarse. Antes de rechazar un tubo de transporte de torunda que no contenga ninguna torunda, compruebe que no se trata de un tubo de transferencia de muestras APTIMA, ya que este tubo de transporte de muestras no contendrá ninguna torunda.

R. Para muestras de Pap en medio líquido PreservCyt, recoja la muestra de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las alícuotas posteriormente eliminadas del vial PreservCyt para su análisis con el ensayo APTIMA GC deben procesarse utilizando sólo el kit de transferencia de muestras APTIMA.

S. Una vez realizada la perforación, el líquido puede salirse de los tapones de los tubos de transporte APTIMA bajo determinadas condiciones. Siga las instrucciones en el *Procedimiento de prueba* adecuado para prevenir este caso.

Información para los ensayos

T. No se ha evaluado el rendimiento de las muestras de torunda vaginal en mujeres embarazadas.

U. No se ha evaluado el rendimiento de las muestras en torundas endocervicales, vaginales o uretrales masculinas, las muestras de orina masculina o femenina, ni las muestras de Pap en medio líquido PreservCyt en adolescentes menores de 16 años.

V. No utilice este kit después de su fecha de caducidad.

W. No intercambie, mezcle ni combine reactivos de ensayo de kits con números de lotes diferentes. Los controles y fluidos de ensayo APTIMA pueden ser de diferentes números de lote.

Información de los sistemas DTS

X. Se deben utilizar puntas con tapones hidrofóbicos. Se necesita un mínimo de dos pipetas de repetición para su uso de forma dedicada con este ensayo: una para uso en los pasos de captura seleccionada y amplificación, y otra para uso en los pasos del HPA. Se deben dedicar dos micropipeteadores para su uso de forma dedicada con este ensayo: uno para la transferencia de muestras y el otro para la preparación de reactivos. Todos los pipeteadores deben limpiarse regularmente según se describe en *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS*, *Notas de procedimiento*.

Y. Cuando se usen pipetas de repetición para la adición de reactivos, no toque el tubo con la punta de pipeta para impedir el arrastre de un tubo a otro.

Z. Es necesaria una mezcla adecuada para lograr resultados exactos en el ensayo. Para los detalles completos, consulte *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS*, *Notas de procedimiento*.

AA. Se deben dedicar baños de agua independientes para los pasos de captura seleccionada, amplificación y HPA del ensayo.

AB. La reproducibilidad del ensayo se estableció utilizando un medio de transporte de torunda enriquecido con rRNA. No se ha determinado la reproducibilidad en el análisis de muestras de torunda y de orina que contenían el organismo seleccionado.

AC. Las tarjetas de sellado se deben desechar en el contenedor de desechos inmediatamente después de retirarlas de los tubos de reacción. Se deben utilizar siempre tarjetas de sellado nuevas: no deben reutilizarse nunca las de un paso anterior. Las tarjetas de sellado se deben fijar firmemente a la parte superior de todos los tubos de reacción.

Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos

A. Los siguientes reactivos permanecen estables cuando se almacenan a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (refrigerados):

Reactivo de amplificación GC APTIMA

Reactivo enzimático APTIMA

Reactivo de sonda GC APTIMA

Reactivo de captura seleccionada B APTIMA

Control positivo, GC / Control negativo, CT APTIMA

Control positivo, CT / Control negativo, GC APTIMA

B. Los siguientes reactivos permanecen estables cuando se almacenan a una temperatura entre 2 °C y 30 °C:

Solución de reconstitución de reactivo de amplificación GC APTIMA

Solución de reconstitución de reactivo enzimático APTIMA

Solución de reconstitución de reactivo de sonda GC APTIMA

Reactivo de selección APTIMA

C. Los siguientes reactivos permanecen estables cuando se almacenan a una temperatura entre 15 °C y 30 °C (temperatura ambiente):

Reactivo de captura seleccionada GC APTIMA

Solución de lavado APTIMA

Tampón para fluido de desactivación APTIMA

Reactivo de aceite APTIMA

D. El reactivo de captura seleccionada de trabajo GC (wTCR GC) se mantiene estable durante 60 días cuando se almacena a una temperatura entre 15 °C y 30 °C. No lo refrigere.

E. Después de la reconstitución, el reactivo enzimático, el reactivo de amplificación GC y el reactivo de sonda GC permanecen estables durante 60 días cuando se almacenan a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.

F. Deseche los reactivos reconstituidos y el wTCR sin usar después de 60 días o una vez pasada la fecha de caducidad del lote maestro, lo que suceda primero.

G. Los controles son estables hasta la fecha indicada en los viales.

H. Los reactivos de los frascos para 50 pruebas almacenados en el TIGRIS DTS System son estables durante 48 horas en el instrumento.

I. Los reactivos de los frascos de 100 pruebas almacenados en el TIGRIS DTS System tienen 96 horas de estabilidad cargados.

J. Los reactivos almacenados en el sistema PANTHER tienen 72 horas de estabilidad cargados.

K. Tanto el reactivo de sonda GC como el reactivo de sonda reconstituido GC son fotosensibles. Almacene los reactivos al abrigo de la luz.

L. Una vez calentados a temperatura ambiente, algunos tubos de controles pueden aparecer turbios o contener precipitados. La turbiedad o la precipitación asociadas a los controles no afectan al rendimiento del control. Los controles se pueden utilizar estén claros o turbios/precipitados. Si se desean controles claros, se puede acelerar la solubilización incubándolos en el extremo superior del rango de temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).

M. No congele los reactivos.

Recogida y almacenamiento de muestras

El ensayo APTIMA GC está diseñado para detectar la presencia de GC en muestras de torunda endocervical, vaginal y uretral masculina recogidas por el clínico, muestras de torunda vaginal recogidas por la paciente, muestras de orina masculina y femenina, y muestras de Pap en medio líquido PreservCyt. No se ha evaluado el rendimiento con muestras distintas a las recogidas con los siguientes kits de recogida de muestras:

- Kit de recogida de muestras de torunda unisex APTIMA para muestras de torunda endocervical y uretral masculina
- Kit de recogida de orina APTIMA para muestras de orina masculina y femenina
- Kit de recogida de muestras de torunda vaginal APTIMA
- Kit de transferencia de muestras APTIMA (para uso con muestras ginecológicas recolectadas en solución PreservCyt)

A. Instrucciones de recogida:

Consulte el prospecto del kit de recogida de muestras pertinente para las instrucciones de recogida.

B. Transporte y almacenamiento de muestras antes de la prueba:

1. Muestras de torunda:
   a. Una vez recogida la muestra, la torunda se debe transportar y almacenar en el tubo de transporte de muestras de torunda a una temperatura entre 2 °C y 30 °C hasta que se analice. Las muestras deben analizarse con el ensayo APTIMA GC en los 60 días siguientes a su recogida. Si fuera necesario ampliar el tiempo de almacenamiento, se pueden congelar a una temperatura entre -20 °C y -70 °C durante un período de hasta 12 meses después de la recogida (consulte *Estudios de la estabilidad de las muestras*).
2. Muestras de orina:
   a. Las muestras de orina que todavía se encuentren en el recipiente de recogida principal se deben transportar al laboratorio a una temperatura entre 2 °C y 30 °C. Transfiera la muestra de orina al tubo de transporte de muestras de orina APTIMA en las 24 horas siguientes a su recogida. Almacene entre 2 °C y 30 °C, y analice en los 30 días siguientes a su recogida.
   b. Una vez recogidas, las muestras de orina procesadas se deben transportar en el tubo de transporte de muestras de orina APTIMA a una temperatura entre 2 °C y 30 °C y almacenar entre 2 °C y 30 °C hasta que se analicen. Las muestras de orina procesadas se deben analizar con el ensayo APTIMA CG en los 30 días siguientes a su recogida. Si fuera necesario ampliar el tiempo de almacenamiento, se pueden congelar a una temperatura entre -20 °C y -70 °C durante un período de hasta 12 meses después de la recogida (consulte *Estudios de la estabilidad de las muestras*).
3. Muestras de Pap en medio líquido PreservCyt:
   a. Las muestras de Pap en medio líquido PreservCyt destinadas a pruebas de GC se deben procesar para citología o transferirse a un tubo de transferencia de muestras APTIMA en los 30 días siguientes a su recogida, si se conservan a una temperatura entre 2 °C y 30 °C (consulte *Estudios de la estabilidad de las muestras*).
   b. Si se va a usar el procedimiento de eliminación de alícuotas ThinPrep, consulte el *ThinPrep 2000 o ThinPrep 3000 Processor Operator's Manual-Addendum (Manual del usuario del procesador ThinPrep 2000 o ThinPrep 3000-Apéndice)* para obtener

instrucciones al respecto. Transfiera 1 mL de la alícuota extraída a un tubo de transferencia de muestras APTIMA de acuerdo con las instrucciones del prospecto del kit de transferencia de muestras APTIMA.

c. Si la muestra se va a analizar después del procesamiento con el procesador ThinPrep 2000, procese la muestra de Pap en medio líquido PreservCyt según se indica en el *ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual (Manual del usuario del procesador ThinPrep 2000)* y en el prospecto del kit de transferencia de muestras APTIMA. Transfiera 1 mL del fluido restante en el vial de solución PreservCyt a un tubo de transferencia de muestras APTIMA de acuerdo con las instrucciones del prospecto del kit de transferencia de muestras APTIMA.

d. Una vez transferida la muestra de Pap en medio líquido PreservCyt al tubo de transferencia de muestras APTIMA, la muestra debe analizarse con el ensayo APTIMA GC antes de 30 días si se ha almacenado a una temperatura entre 2 °C y 8 °C o antes de 14 días si se ha almacenado entre 15 °C y 30 °C. Si fuera necesario ampliar el tiempo de almacenamiento, se pueden congelar a una temperatura entre -20 °C y -70 °C durante un período de hasta 12 meses después de la transferencia (consulte *Estudios de la estabilidad de las muestras*).

C. Almacenamiento de muestras después de la prueba:

1. Las muestras analizadas deben almacenarse boca arriba en una gradilla.
2. Los tubos de transporte de muestras deben cubrirse con una nueva barrera de aluminio o película de plástico limpias.
3. Si es necesario congelar o enviar las muestras analizadas, sustituya los tapones penetrables de los tubos de transporte de muestras por tapones nuevos no penetrables. Si es necesario enviar las muestras para su análisis a otro laboratorio, se deben mantener las temperaturas recomendadas. Antes de destapar las muestras anteriormente analizadas y tapadas, se deben centrifugar los tubos de transporte de muestras durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) de 420 para llevar todo el líquido al fondo del tubo. **Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.**

Nota: *Las muestras deben enviarse de acuerdo con las normativas de transporte nacionales e internacionales aplicables.*

Sistemas DTS



Los reactivos para el ensayo APTIMA GC se indican a continuación para los sistemas DTS. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit para el ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA, 100 pruebas (2 cajas) (Nº de catálogo 301091)

Caja refrigerada para el ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA (caja 1 de 2) (almacenar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
A	**Reactivo de amplificación GC APTIMA** *Ácidos nucleicos no infecciosos secados en solución de tampón con un contenido de agente de volumen < 5%.*	1 vial
E	**Reactivo enzimático APTIMA** *Transcriptasa inversa y RNA polimerasa secadas en solución de tampón HEPES con un contenido de reactivo de volumen < 10%.*	1 vial
P	**Reactivo de sonda GC APTIMA** *Sondas de DNA quimioluminiscentes y no infecciosas secadas en solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5%.*	1 vial
TCR-B	**Reactivo de captura seleccionada B APTIMA** *Ácido nucleico no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5%.*	1 x 0,35 mL
PGC/ NCT	**Control positivo, GC / Control negativo, CT APTIMA** *Ácido nucleico GC no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5%. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 50 células GC (250 fg/ensayo*).*	3 x 1,7 mL
PCT/ NGC	**Control positivo, CT / Control negativo, GC APTIMA** *Ácido nucleico CT no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5%. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado 1 IFU CT (5 fg/ensayo*).*	3 x 1,7 mL

*Los equivalentes de rRNA se calcularon a partir del tamaño del genoma y de la razón DNA:RNA por célula estimada de cada organismo.

La caja refrigerada contiene también lo siguiente (bandeja de almacenamiento):
(almacenar entre 2 °C y 30 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
AR	**Solución de reconstitución de reactivo de amplificación GC APTIMA** *Solución acuosa con conservantes.*	1 x 9,3 mL
ER	**Solución de reconstitución de reactivo enzimático APTIMA** *Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.*	1 x 3,3 mL
PR	**Solución de reconstitución de reactivo de sonda GC APTIMA** *Solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5%.*	1 x 12,4 mL
S	**Reactivo de selección APTIMA** *Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.*	1 x 31 mL
	Collares de reconstitución	3
	Tarjetas de sellado	1 envase

Caja a temperatura ambiente para el ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA (caja 2 de 2)
(almacenar entre 15 °C y 30 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
TCR	**Reactivo de captura seleccionada GC APTIMA** *Solución de tampón sal con un contenido de oligómeros de captura y fase sólida.*	1 x 22 mL
W	**Solución de lavado APTIMA** *10 mM de solución de tampón HEPES con un contenido de detergente < 2%.*	1 x 402 mL
DF	**Tampón para fluido de desactivación APTIMA** *Solución de tampón bicarbonato 800 mM.*	1 x 402 mL
O	**Reactivo de aceite APTIMA** *Aceite de silicona*	1 x 24,6 mL

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: *Se indica el número de catálogo de los materiales que pueden adquirirse de Gen-Probe, a menos que se especifique lo contrario.*

	Nº de catálogo
Luminómetro LEADER HC+	104747-01
Sistema de captura seleccionada (Target Capture System, TCS) de GEN-PROBE	104555
Incubadoras y mezcladores vórtex:	
2 mezcladores vórtex multitubo 102160	
3 baños de agua circulante 104586 (62 ºC ± 1 ºC, 42 ºC ± 1 ºC, 62 ºC ± 1 ºC)	
3 espaciadores de baño de agua 104627	
O	
2 baños de calor seco/mezcladores vórtex SB100 105524	
Puede que se requieran baños SB100 adicionales a medida que aumente el volumen de la prueba	
Kit de Auto Detect APTIMA	301048
2 pipeteadores eppendorf Repeater Plus	105725
2 pipeteadores, 1.000 µL RAININ PR1000	901715
pipeteador eppendorf, 20 µL a 200 µL	105726
Puntas de pipeta de repetición, 2,5 mL	21-381-329
Puntas de pipeta de repetición, 5,0 mL	21-381-330
Puntas de pipeta de repetición, 25,0 mL	21-381-115
Puntas, estilo P1000 *punta de diámetro especial distribuida solamente por Gen-Probe*	105049
Puntas de pipeta de 20 µL a 200 µL	705512 (Fisher)
Unidades de diez tubos (Ten Tube Unit, TTU)	TU0022
Casetes de diez puntas (Ten Tip Cassette, TTC)	104578
Kit de recogida de muestras de torunda unisex APTIMA para muestras de torunda endocervical y uretral masculina	301041
Kit de recogida de muestras de orina APTIMA para muestras de orina masculina y femenina	301040
Tubos de transporte de muestras de orina APTIMA para muestras de orina masculina y femenina	105575
Kit de recogida de muestras de torunda vaginal APTIMA	301162
Kit de transferencia de muestras APTIMA	301154C
Patrón de calibración SysCheck	301078
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5% al 7% (0,7 M a 1,0 M)	—
Recipientes estándar para recogida de orina, sin conservantes	—
Recipiente de plástico con tapón grande	—
Tapones penetrables APTIMA	105668
Tapones no penetrables de repuesto	103036A

Materiales opcionales

	Nº de catálogo
Kit de controles APTIMA	301110
Fluidos de ensayo APTIMA *Solución de lavado APTIMA, tampón para fluido de desactivación APTIMA y reactivo de aceite APTIMA*	302002C
Potenciador de lejía GEN-PROBE *para la limpieza sistemática de las superficies y el equipo*	302101
Prueba múltiple de cualificación de ETS	102325
Puntas conductoras de 1.000 µL con detección de líquido	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4, con *Sistemas DTS 800 APTIMA COMBO 2* *Placa de la plataforma 105200* *Depósito de reactivos (cuarto de módulo de 40 mL) 104765* *Depósito de reactivo dividido (cuarto de módulo de 19 mL x 2) 104763*	900932

Procedimiento de prueba de los sistemas DTS

A. Preparación del equipo

1. Prepare un baño de agua a 62 °C ± 1 °C (para captura seleccionada y anilado del cebador), un segundo baño de agua a 42 °C ± 1 °C (para amplificación) y un tercer baño de agua a 62 °C ± 1 °C (para HPA). Si se usa el baño de calor seco/mezclador vórtex SB100, consulte la *Hoja de aplicación del baño de calor seco/mezclador vórtex SB100* (*Hoja de aplicación SB100*).
2. Antes de iniciar el ensayo, limpie las superficies de trabajo y los pipeteadores con solución de hipoclorito de sodio del 2,5% al 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies y los pipeteadores por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua. No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa en la que se vaya a realizar la prueba con cubiertas absorbentes, con forro de plástico, que estén limpias para mesas de laboratorio.
3. Coloque un número suficiente de casetes de diez puntas en el sistema de captura seleccionada (Target Capture System, TCS). Asegúrese de que la botella de lavado del TCS esté llena de solución de lavado APTIMA y el peine múltiple de aspiración esté conectado a la bomba de vacío. (Consulte el *Target Capture System Operator's Manual [Manual del usuario del sistema de captura seleccionada].*)

B. Reconstitución de reactivos

Nota: *La reconstitución de los reactivos debe llevarse a cabo antes de iniciar la transferencia de muestras.*

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación GC, enzimático y de sonda GC, combine los frascos de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución. Si las soluciones de reconstitución están refrigeradas, espere a que se equilibren a la temperatura ambiente antes de utilizarlas.
   a. Empareje la solución de reconstitución adecuada con el reactivo liofilizado. Las etiquetas están codificadas por color de forma que se puedan emparejar correctamente.

b. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte con firmeza el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial (figura 1, paso 1).

c. Abra la botella de la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.

d. Mientras sostiene el frasco con la solución de reconstitución sobre la mesa, inserte firmemente el otro extremo del collar de reconstitución en la abertura del frasco (figura 1, paso 2).

e. Invierta lentamente el conjunto de frasco y vial. Deje que la solución pase del frasco al vial de vidrio (figura 1, paso 3).

f. Agite con una rotación suave la solución en el vial para mezclarla. Evite que se forme espuma al agitar el vial (figura 1, paso 4).

g. Espere a que el reactivo liofilizado pase a la solución y luego invierta de nuevo el conjunto de frasco y vial, inclinándolo a un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (figura 1, paso 5). Deje que todo el líquido regrese al frasco.

h. Retire el collar de reconstitución del frasco (figura 1, paso 6).

i. Vuelva a tapar el frasco. Anote las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (figura 1, paso 7).

j. Deseche el collar de reconstitución y el vial (figura 1, paso 8).

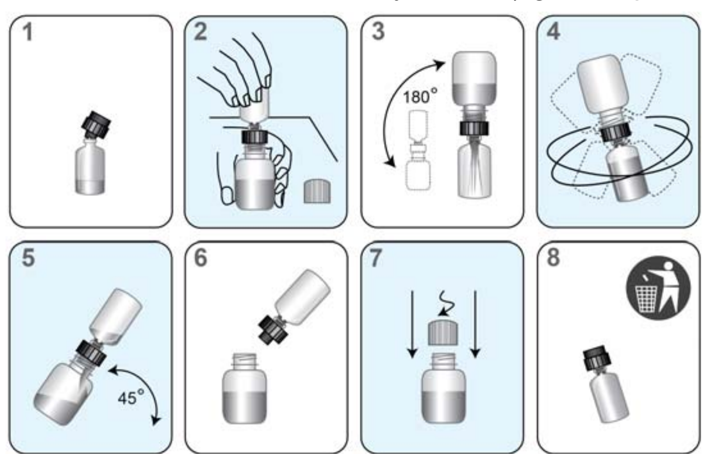


Figura 1. Proceso de reconstitución de los sistemas DTS

2. Los reactivos de sonda GC, amplificación GC y enzimático previamente reconstituidos deben alcanzar la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de que se inicie el ensayo. Si el reactivo de sonda contiene precipitado que no se disuelve a temperatura ambiente, caliéntelo a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, el reactivo de sonda se puede utilizar aunque queden residuos del precipitado. Después de la resuspensión, mezcle bien con un movimiento de inversión suave, con cuidado para que no se forme espuma.

Nota: *Este paso de inversión se debe realizar cada vez que el precipitado se vuelva a pasar a la solución, ya sea mediante calentamiento a 62 °C o dejándolo calentar a la temperatura ambiente.*

3. Prepare el reactivo de captura seleccionada de trabajo GC (wTCR GC)

   a. Transfiera 20 mL de TCR GC a un recipiente seco, limpio, dedicado y del tamaño adecuado.

   b. Utilizando un micropipeteador, añada 200 µL de TCR-B al TCR GC.

c. Mezcle bien la solución mediante rotación.

d. Etiquete el recipiente. Anote las iniciales del usuario, la fecha de preparación y los dos números de lote.

Nota: *Para un número más pequeño de reacciones (muestras y controles), utilice el siguiente método para calcular los volúmenes de TCR GC y TCR-B:*

Volumen de TCR (mL) = (número de reacciones + 5 reacciones extra) x 0,1 mL

Volumen de TCR-B (mL) = Volumen de TCR (mL) / 100

C. Captura seleccionada

La pipeta de repetición utilizada en la captura seleccionada y la amplificación debe utilizarse de forma dedicada sólo en estos pasos. Consulte *Advertencias y precauciones* para más información.

Preparación de las gradillas

1. Deje que los controles y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes del procesamiento.
2. **No agite las muestras en un mezclador vórtex**.
3. Confirme visualmente que cada tubo de muestras satisface uno de los criterios siguientes:
   a. La presencia de una sola torunda de recogida APTIMA azul en un tubo de transporte de muestras de torunda unisex.
   b. La presencia de una sola torunda de recogida APTIMA rosa en un tubo de transporte de muestras de torunda vaginal.
   c. Un volumen final de orina entre las líneas de llenado negras de un tubo de transporte de muestras de orina.
   d. La ausencia de una torunda en el tubo de transporte de muestras APTIMA con muestras de Pap en medio líquido PreservCyt.
4. Inspeccione los tubos de muestras antes de perforarlos:
   a. Si un tubo de muestra contiene burbujas en el espacio entre el líquido y el tapón, centrifúguelo durante 5 minutos a una RCF de 420 para eliminar las burbujas.
   b. Si un tubo de muestra tiene un volumen inferior al que se suele observar cuando se siguen las instrucciones de recogida, centrifúguelo durante 5 minutos a una RCF de 420 para asegurarse de que no quede líquido en el tapón.
   c. Si el nivel de líquido de un tubo de muestra de orina no está entre las dos líneas indicadoras negras de la etiqueta, la muestra debe rechazarse. No perfore un tubo sobrellenado.
   d. Si un muestra de orina contiene precipitados, caliente la muestra a 37 °C durante un máximo de 5 minutos. Si el precipitado no se vuelve a disolver, asegúrese visualmente de que éste no obstaculice la entrega de la muestra.

Nota: *Una incorrecta realización de los pasos 4a - c puede provocar una descarga de líquido del tapón del tubo de muestras.*

5. Si se van a analizar muestras con tapones estándar (no penetrables), se deben centrifugar durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) de 420 para llevar todo el líquido al fondo del tubo antes de quitar el tapón. **Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.**
6. Coloque suficientes TTU en la gradilla para unidades de diez tubos (Ten Tube Unit, TTU) para contener los controles y las muestras.

7. Si se desea disponer de una lista de trabajo, debe crearla en este momento. Para instrucciones sobre cómo crear una lista de trabajo, consulte el *APTIMA Assay Software Operator's Manual (Manual del usuario del software del ensayo APTIMA)*.
8. Mezcle bien con el wTCR GC. Use la pipeta de repetición para añadir 100 µL en cada tubo de reacción.
9. **El primer tubo de reacción del ensayo debe contener el control negativo, y el segundo tubo de reacción, el control positivo.**
   a. La etiqueta del control negativo para el ensayo APTIMA GC es rosa. El texto de la etiqueta identifica el control negativo como «CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC». La etiqueta del control positivo para el ensayo APTIMA GC es azul-verdosa. El texto de la etiqueta identifica el control positivo como «CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT».
   b. Sostenga el tubo de control negativo (tubo con la etiqueta rosa) en una mano o manténgalo en una gradilla. Utilice un micropipeteador, perfore el tapón con cuidado de que la punta no llegue hasta el fondo del tubo. Añada 400 µL de control negativo (tubo con la etiqueta rosa) al primer tubo de reacción. De la misma forma y utilizando una nueva punta de pipeta, añada 400 µL de control positivo (tubo con la etiqueta azul-verdosa) al segundo tubo de reacción.
10. Continúe con el procedimiento de preparación de la gradilla añadiendo 400 µL de cada muestra al resto de los tubos de reacción. Utilice una nueva punta de pipeta para cada muestra y control. El volumen aceptable de muestra o de control añadido a un tubo de reacción es 400 µL ± 100 µL. Consulte *Notas de procedimiento*, *Pipeteo de controles y muestras* para más información.

Captura seleccionada

El uso del sistema de captura seleccionada GEN-PROBE se describe en el *Target Capture System Operator's Manual (Manual del usuario del sistema de captura seleccionada)*. Si se usa el baño de calor seco/mezclador vórtex SB100, consulte la *Hoja de aplicación SB100*.

11. Cubra las TTU con tarjetas de sellado y sacuda suavemente la gradilla con la mano. **No agite con mezclador vórtex.** Incube la gradilla en un baño de agua a 62 °C ± 1 °C durante 30 ± 5 minutos.
12. Retire la gradilla del baño de agua y seque los fondos de los tubos sobre un material absorbente.
13. Asegúrese de que las tarjetas de sellado estén firmemente asentadas. Si es necesario, sustitúyalas por tarjetas de sellado nuevas y selle bien las TTU.
14. Agite la gradilla durante 60 segundos en el mezclador vórtex multitubo. Consulte *Notas de procedimiento*, *Agitación con mezclador vórtex* para los detalles. Comience la agitación con mezclador vórtex antes de transcurridos 2 minutos de haber retirado la gradilla del baño de agua.
15. Sin retirar las tarjetas de sellado, incube la gradilla a temperatura ambiente durante 30 ± 5 minutos.
16. Coloque la gradilla sobre la base magnética del TCS durante 5 a 10 minutos.
17. Cebe la línea de la bomba de la estación de distribución bombeando la solución de lavado APTIMA a través del peine múltiple de distribución. Bombee suficiente líquido a través del sistema para que no haya burbujas de aire en la línea y para que las diez boquillas distribuyan un flujo de líquido continuo.
18. Encienda la bomba de vacío y desconecte el peine múltiple de aspiración en el primer conector, entre el peine múltiple de aspiración y el frasco separador. Asegúrese de que

el vacuómetro cumpla la especificación de la prueba de fugas.[1] Esta lectura puede tardar 15 segundos. Vuelva a conectar el peine múltiple de aspiración y asegúrese de que el vacuómetro cumple la especificación del nivel de vacío. Deje encendida la bomba de vacío hasta que hayan finalizado todos los pasos de captura seleccionada y el tubo del peine múltiple de aspiración esté seco.

19. Conecte firmemente el peine múltiple de aspiración al primer conjunto de puntas. Aspire todo el líquido bajando las puntas para introducirlas en la primera TTU hasta que entren brevemente en contacto con los fondos de los tubos. No mantenga las puntas en contacto con los fondos de los tubos.
20. Una vez completada la aspiración, expulse las puntas a su TTC original. Repita los pasos de aspiración para el resto de las TTU, usando una punta dedicada para cada muestra.
21. Coloque el peine múltiple de distribución sobre cada una de las TTU y, usando la bomba de la estación de distribución, dispense 1,0 mL de solución de lavado APTIMA en cada uno de los tubos de la TTU.
22. Cubra los tubos con una tarjeta de sellado y retire la gradilla de la base magnética del TCS. Agite la gradilla una vez en el mezclador vórtex multitubo. Consulte *Notas de procedimiento*, *Agitación con mezclador vórtex* para los detalles.
23. Coloque la gradilla sobre la base magnética del TCS durante 5 a 10 minutos.
24. Aspire todo el líquido según se describe en los pasos 19 y 20.
25. Después de la aspiración final, retire la gradilla de la base magnética del TCS e inspeccione los tubos visualmente para asegurarse de que todo el líquido ha sido aspirado y de que todos los tubos contienen granos de partículas magnéticas. Si hay líquido visible, coloque la gradilla nuevamente en la base magnética del TCS durante 2 minutos y repita la aspiración de esa TTU con las mismas puntas utilizadas anteriormente para cada muestra.

Nota: *Se puede aceptar el tubo si después de terminada la aspiración se puede ver algún grano de partículas magnéticas. Si no se puede ver ningún grano, la muestra debe volverse a analizar. Si la misma muestra no contiene un grano de partículas magnéticas en este paso en un ciclo subsiguiente, esto podría ser indicativo de un problema específico de la muestra. En este caso se recomienda recoger de nuevo la muestra.*

D. Amplificación

Si se usa el baño de calor seco/mezclador vórtex SB100, consulte la *Hoja de aplicación SB100*.

1. Use la pipeta de repetición para añadir 75 µL de reactivo de amplificación reconstituido GC a cada tubo de reacción. Todas las mezclas de reacción en la gradilla deben ser ahora rojas.
2. Use la pipeta de repetición para añadir 200 µL de reactivo de aceite a cada tubo de reacción.
3. Cubra los tubos con una tarjeta de sellado y agítelos en el mezclador vórtex multitubo.
4. Incube la gradilla en un baño de agua a 62 °C ± 1 °C durante 10 ± 5 minutos.
5. Transfiera la gradilla al baño de agua a 42 °C ± 1 °C e incúbelo durante 5 ± 2 minutos.
6. Con la gradilla en el baño de agua, retire con cuidado la tarjeta de sellado y, con la pipeta de repetición, añada 25 µL de reactivo enzimático reconstituido a cada tubo de reacción. Todas las mezclas de reacción deben ser ahora naranjas.
7. Cubra inmediatamente los tubos con tarjetas de sellado nuevas, retire la gradilla del baño de agua y mezcle los tubos de reacción agitando suavemente la gradilla con la mano.
8. Incube la gradilla en un baño de agua a 42 °C ± 1 °C durante 60 ± 15 minutos.

1 Consulte la Hoja de especificaciones del nivel de vacío del sistema de captura seleccionada al final del *Target Capture System Operator's Manual (Manual del usuario del sistema de captura seleccionada)* o póngase en contacto con el servicio técnico.

E. Ensayo de protección de la hibridación (Hybridization Protection Assay, HPA)

Si se usa el baño de calor seco/mezclador vórtex SB100, consulte la *Hoja de aplicación SB100*.

La pipeta de repetición utilizada en los pasos de hibridación y selección debe utilizarse de forma dedicada sólo en estos pasos. Consulte *Advertencias y precauciones*.

1. Hibridación
   a. Retire la gradilla del baño de agua y transfiérala al área del HPA. Use la pipeta de repetición para añadir 100 µL del reactivo de sonda GC reconstituido a cada tubo de reacción. Todas las mezclas de reacción deben ser ahora amarillas.
   b. Cubra los tubos con una tarjeta de sellado y agite la gradilla en el mezclador vórtex multitubo.
   c. Incube la gradilla en un baño de agua a 62 °C ± 1 °C durante 20 ± 5 minutos.
   d. Retire la gradilla del baño de agua e incúbela a temperatura ambiente durante 5 ± 1 minutos.
2. Selección
   a. Use la pipeta de repetición para añadir 250 µL de reactivo de selección a cada tubo de reacción. Todas las mezclas de reacción deben ser ahora rojas.
   b. Cubra los tubos con una tarjeta de sellado, agite la gradilla en el mezclador vórtex durante 10 segundos o hasta que el color sea uniforme, e incube la gradilla en un baño de agua a 62 °C ± 1 °C durante 10 ± 1 minutos.
   c. Retire la gradilla del baño de agua.
3. Detección

   La detección debe realizarse a una temperatura entre 18 °C y 28 °C.

   a. Incube la gradilla a una temperatura entre 18 °C y 28 °C durante 15 ± 3 minutos.

Nota: *Este rango de temperatura es esencial para el rendimiento del ensayo.*

   b. Para usar el luminómetro LEADER HC+ y el software del ensayo APTIMA, consulte el *LEADER HC+ Luminometer Operator's Manual (Manual del usuario del luminómetro LEADER HC+)* y el *APTIMA Assay Software Operator's Manual (Manual del usuario del software del ensayo APTIMA).*
   c. Asegúrese de que los volúmenes de Auto Detect 1 y 2 alcancen para completar las pruebas.
   d. Prepare el luminómetro LEADER HC+. Para ello, coloque una TTU vacía en la posición para casete número 1 y realice el protocolo de **lavado (Wash)**.
   e. Cargue las TTU en el luminómetro.
   f. Inicie sesión en el ordenador. Haga clic en **Nuevo ciclo (New Run)**, seleccione el **protocolo del ensayo APTIMA GC (APTIMA GC Assay Protocol)** e introduzca el número de tubos (controles y muestras). Haga clic en **Siguiente (Next)** para iniciar el ciclo.

Nota: *El ciclo debe completarse en las 2 horas siguientes a la finalización de la incubación del paso de selección.*

   g. Prepare el fluido de desactivación mezclando volúmenes iguales de solución de hipoclorito de sodio del 5% al 7% (0,7 M a 1,0 M) y tampón para fluido de desactivación APTIMA en un recipiente de plástico con tapón grande. Etiquete y escriba la fecha de caducidad en el recipiente de plástico. El fluido de desactivación

permanece estable durante 4 semanas a temperatura ambiente. Deseche el fluido de desactivación después de 4 semanas o después de haberse desactivado 100 muestras procesadas (lo que suceda primero).

h. Una vez retiradas del luminómetro las TTU utilizadas, coloque las TTU en el contenedor del fluido de desactivación. Deje que las TTU permanezcan en el contenedor durante 15 minutos antes de desecharlas. El director del laboratorio debe establecer métodos de manipulación y eliminación adecuados.

Notas de procedimiento

A. Controles

Para trabajar correctamente con el software del ensayo APTIMA, el control negativo para GC, que está etiquetado «CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC» debe estar en la primera posición de la primera TTU. El control positivo para GC, que está etiquetado «CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT», debe estar en la segunda posición de la primera TTU. La colocación en la posición incorrecta provocará el fallo del ciclo. Los controles adicionales deben introducirse como muestras de paciente y su validez deberá ser supervisada por el usuario. El control positivo para CT sirve como control negativo para el ensayo APTIMA GC.

B. Pipeteo de controles y muestras

El volumen de control o muestra añadido al tubo de reacción deberá ser de 400 µL ± 100 µL. Se recomienda la inspección visual del volumen pipeteado al tubo de reacción para garantizar que se transfiere el volumen adecuado. Se necesita un volumen adecuado de control o de muestra para conseguir resultados exactos. Si no se ha pipeteado el volumen correcto, vuelva a pipetear el wTCR GC y el control o muestra en un nuevo tubo de reacción.

C. Reactivos

La solución de reconstitución de reactivo de sonda puede precipitar mientras está almacenada. Si esto ocurre, caliente la solución de reconstitución de reactivo de sonda a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, la solución de reconstitución de reactivo de sonda se puede utilizar aunque queden residuos del precipitado. Después de la resuspensión, mezcle bien el vial con un movimiento de inversión suave, con cuidado para que no se forme espuma.

D. Temperatura

1. Los pasos de captura seleccionada, amplificación, hibridación y selección dependen de la temperatura. Por lo tanto, es imperativo que los baños de agua se mantengan dentro de los rangos de temperatura especificados.
2. La temperatura ambiente se define como de 15 °C a 30 °C.
3. Los pasos de detección en el ensayo se deben realizar a una temperatura entre 18 °C y 28 °C.

E. Tiempo

Las reacciones de captura seleccionada, amplificación, hibridación y selección dependen todas del tiempo. Observe los tiempos especificados en el *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS*.

F. Agitación con mezclador vórtex

Una agitación con mezclador vórtex correcta es importante para el resultado satisfactorio del ensayo APTIMA GC. Cuando se consigue un movimiento de agitación correcto, la suspensión gira a un ritmo que eleva la solución a la mitad superior del tubo. Esta manipulación (agitación en mezclador vórtex) se mantiene durante periodos de tiempo especificados. Para agitar en mezclador vórtex las reacciones, seleccione en el mezclador vórtex multitubo la velocidad más baja, fije la gradilla y encienda el aparato. Aumente lentamente la velocidad hasta que el líquido suba hasta la mitad del tubo. Agite durante 10 segundos, la cantidad de tiempo indicada, o hasta que el color sea uniforme. A continuación, reduzca la velocidad al mínimo antes de apagar el mezclador vórtex multitubo y retirar la gradilla. Las mezclas de reacción nunca deben tocar las tarjetas de sellado.

G. Baños de agua

1. El nivel de agua en los baños de agua debe mantenerse con una profundidad entre 3,8 y 5 cm (de 1,5 a 2,0 pulgadas), medido desde la bandeja de metal de apoyo (en el fondo del baño de agua) hasta la superficie del agua. Esto garantiza la transferencia de calor adecuada.
2. Para evitar la contaminación cruzada, los baños de agua deben dedicarse a un paso específico del ensayo.

H. Descontaminación

1. Superficies y pipeteadores

   Las superficies de las mesas de trabajo del laboratorio y los pipeteadores se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5% al 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua. No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Las soluciones de cloro pueden picar el equipo y el metal. Enjuague a fondo con agua para evitar que se pique.

2. Peine múltiple de aspiración del TCS

   a. Coloque un nuevo TTC en la gradilla para TTC. Encienda la bomba de vacío. Conecte el peine múltiple de aspiración a las puntas del TTC. Aspire toda la solución de lavado restante en la cubeta de cebado de la estación de distribución de la solución de lavado. (Aparte el peine múltiple de distribución.)
   b. Vierta al menos 100 mL de solución de hipoclorito de sodio del 0,5% al 0,7% (0,07 M a 0,1 M) o, si se prefiere, del 2,5% al 3,5% (0,35 M a 0,5 M) en la cubeta de cebado. Aspire toda la solución a través del peine múltiple de aspiración.
   c. Vierta al menos 100 mL de agua desionizada en la cubeta de cebado. Aspire toda el agua a través del peine múltiple de aspiración.
   d. Expulse las puntas a su TTC original.
   e. Deje encendida la bomba de vacío hasta que el tubo del peine múltiple esté seco para evitar el retroflujo.
   f. Descontamine las superficies del peine múltiple de aspiración según se describe en *Unidad TCS*.

3. Contenedor de desechos del TCS

   Retire la botella de desechos del sistema de captura seleccionada semanalmente o cuando esté llena en un 25%.

   a. Apague la bomba de vacío y deje que la presión de vacío se iguale.

b. Libere los conectores de desconexión rápida entre la botella de desechos y la botella de derrames, y entre la botella de desechos y el peine múltiple de aspiración.

c. Retire la botella de desechos del alojamiento del depósito de vacío.

d. Retire el tapón y añada cuidadosamente 400 mL de solución de hipoclorito de sodio del 5% al 7% (0,7 M a 1,0 M) al frasco (o 1 L si se utiliza una botella de desechos de 10 L).

Nota: *Esto se puede llevar a cabo en una campana extractora de humos para no liberar gases en el laboratorio.*

e. Tape la botella de desechos y agite con una rotación suave el contenido hasta que esté completamente mezclado.

f. Deje que la botella de desechos repose durante 15 minutos y, a continuación, deseche el contenido (desecho).

g. Enjuague la botella de desechos con agua para eliminar todo resto de desechos.

h. Tape la botella de desechos vacía y colóquela en el alojamiento del depósito de vacío. Conecte el conector de desconexión rápida a la unidad TCS. Deseche los guantes con cuidado.

4. Unidad TCS

Limpie las superficies de la unidad TCS, el peine múltiple de aspiración y las puntas eyectoras del tampón de lavado con toallas de papel humedecidas con una solución de hipoclorito de sodio del 2,5% al 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Después del paso de hipoclorito de sodio, enjuague con agua y luego seque del todo las superficies con toallas de papel.

5. Gradillas

Sumerja las gradillas en una solución de hipoclorito de sodio del 2,5% al 3,5% (0,35 M a 0,5 M), comprobando que la solución las cubra. Mantenga las gradillas sumergidas durante 10 minutos. Una exposición más prolongada puede dañarlas. Enjuague bien las gradillas con agua, colóquelas sobre un paño limpio absorbente y deje que se sequen completamente al aire. Para prolongar la vida útil de las gradillas, séquelas boca arriba, no boca abajo.

I. Contaminación del ensayo

1. Si no se toman suficientes precauciones durante el protocolo del ensayo, pueden introducirse materiales contaminantes.
2. Las TTU deben descontaminarse en fluido de desactivación según se describe en el apartado *Detección*. No vuelva a usar las TTU.
3. Lleve a cabo la descontaminación regular del equipo y de las superficies de trabajo según se describe en *Notas de procedimiento*, *Descontaminación*.
4. Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de talco en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin talco.

J. Protocolo de supervisión de la contaminación en laboratorios para los sistemas DTS

Existen numerosos factores específicos de los laboratorios que pueden contribuir a la contaminación, incluido el volumen de la prueba, el flujo de trabajo, la prevalencia de la enfermedad y otras actividades de laboratorio. Estos factores deben tenerse en consideración al establecerse la frecuencia con que se supervisará la contaminación. Los intervalos para la supervisión de la contaminación deben establecerse en función de las prácticas y procedimientos de cada laboratorio.

Para supervisar la contaminación del laboratorio, se puede realizar el siguiente procedimiento usando el kit de recogida de muestras de torunda unisex APTIMA para muestras de torunda endocervical y uretral masculina:

1. Etiquete los tubos de transporte de torunda con los números correspondientes a las áreas que se van a analizar.
2. Extraiga la torunda para recogida de muestras (aplicador azul con impresiones verdes) de su envase, humedezca la torunda en el medio de transporte de torunda y pásela por el área designada con un movimiento circular.
3. Inserte inmediatamente la torunda en el tubo de transporte.
4. Quiebre con cuidado el bastoncillo de la torunda en la línea con la muesca; tenga cuidado de que el contenido no salpique.
5. Vuelva a tapar bien el tubo de transporte de torunda.
6. Repita los pasos del 2 al 5 en todas las áreas en las que se vaya a aplicar la torunda.
7. Analice la torunda utilizando el ensayo APTIMA GC de acuerdo con el *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS*.

Si los resultados son positivos o equívocos para GC (consulte *Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente*), la superficie podría estar contaminada. Descontamine la superficie con solución de hipoclorito de sodio según lo recomendado en *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS*, *Preparación del equipo*.

Nota: *Si se sospecha la existencia de contaminación en el baño de agua, éste puede analizarse usando el procedimiento para muestras de orina, añadiendo 2,0 mL de agua al tubo de transporte de la muestra de orina.*

K. Identificación y solución de problemas

1. Los valores bajos del control positivo pueden deberse a temperaturas incorrectas durante los distintos pasos del ensayo o a un tiempo de selección en el paso de selección mayor del recomendado.
2. Se pueden producir fondos altos si el tiempo de selección en el paso de selección se acorta, la temperatura de selección no es correcta o la mezcla es insuficiente después de la adición del reactivo de selección.
3. Si el control negativo APTIMA para GC, que está etiquetado «CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC», es positivo o equívoco para GC, consulte *Notas de procedimiento, Contaminación del ensayo* para más información.

TIGRIS DTS System



Los reactivos para el ensayo APTIMA GC se indican a continuación para el TIGRIS DTS System. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit para el ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA

100 pruebas (2 cajas y 1 kit de controles) (Nº de catálogo 303092)

2 x 50 pruebas (2 cajas y 1 kit de controles) (Nº de catálogo 302225)

Caja refrigerada para el ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA (Caja 1 de 2) (almacenar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad	
		Kit de 100 pruebas	Kit de 2 x 50 pruebas
A	**Reactivo de amplificación GC APTIMA** *Ácidos nucleicos no infecciosos secados en solución de tampón con un contenido de agente de volumen < 5%.*	1 vial	2 viales
E	**Reactivo enzimático APTIMA** *Transcriptasa inversa y RNA polimerasa secadas en solución de tampón HEPES con un contenido de reactivo de volumen < 10%.*	1 vial	2 viales
P	**Reactivo de sonda GC APTIMA** *Sondas de DNA quimioluminiscentes y no infecciosas secadas en solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5%.*	1 vial	2 viales
TCR-B	**Reactivo de captura seleccionada B APTIMA** *Ácido nucleico no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5%.*	1 x 0,30 mL	2 x 0,143 mL
	Collares de reconstitución		6

Caja a temperatura ambiente para el ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA (Caja 2 de 2) (almacenar entre 15 °C y 30 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad	
		Kit de 100 pruebas	Kit de 2 x 50 pruebas
AR	**Solución de reconstitución de reactivo de amplificación GC APTIMA** *Solución acuosa con conservantes.*	1 x 11,9 mL	2 x 6,4 mL
ER	**Solución de reconstitución de reactivo enzimático APTIMA** *Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.*	1 x 6,3 mL	2 x 3,3 mL
PR	**Solución de reconstitución de reactivo de sonda GC APTIMA** *Solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5%.*	1 x 15,2 mL	2 x 7,7 mL
S	**Reactivo de selección APTIMA** *Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.*	1 x 43,0 mL	2 x 20 mL
TCR	**Reactivo de captura seleccionada GC APTIMA** *Solución de tampón sal con un contenido de oligómeros de captura y fase sólida.*	1 x 26,0 mL	2 x 17 mL
	Collares de reconstitución	3	
	Pipetas de transferencia		2
	Hoja de códigos de barras de lote maestro	1 hoja	1 hoja

Kit de controles APTIMA (almacenar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
PGC/ NCT	**Control positivo, GC / Control negativo, CT APTIMA** *Ácido nucleico GC no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5%. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 50 células GC (250 fg/ensayo*).*	5 x 1,7 mL
PCT/ NGC	**Control positivo, CT / Control negativo, GC APTIMA** *Ácido nucleico CT no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5%. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado 1 IFU CT (5 fg/ensayo*).*	5 x 1,7 mL

*Los equivalentes de rRNA se calcularon a partir del tamaño del genoma y de la razón DNA:RNA por célula estimada de cada organismo.

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: *Se indica el número de catálogo de los materiales que pueden adquirirse de Gen-Probe, a menos que se especifique lo contrario.*

	Nº de catálogo
TIGRIS DTS System	105118

	Nº de catálogo
Kit de fluidos del ensayo APTIMA *(solución de lavado APTIMA, tampón para fluido de desactivación APTIMA y reactivo de aceite APTIMA)*	302382
Kit de Auto Detect APTIMA	301048
Kit de conservante de fluido del sistema APTIMA	302380
Puntas conductoras de 1.000 µL, detectoras de líquido	10612513 (Tecan)
Kit del ciclo del TIGRIS DTS System con *Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU) 104772-02* *Kit de bolsa de desechos de MTU-puntas 900907* *Deflectores de desechos de MTU 900931* *Cubiertas del contenedor de desechos de MTU 105523*	301191
Kit de transferencia de muestras APTIMA *para utilizar con muestras en solución PreservCyt*	301154C
Kit de recogida de muestras de torunda vaginal APTIMA	301162
Kit de recogida de muestras de torunda unisex APTIMA para muestras de torunda endocervical y uretral masculina	301041
Kit de recogida de muestras de orina APTIMA para muestras de orina masculina y femenina	301040
Tubos de transporte de muestras de orina APTIMA para muestras de orina masculina y femenina	105575
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5% al 7% (0,7 M a 1,0 M)	—
Agua para el TIGRIS DTS System *consulte las especificaciones en el TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual del usuario del TIGRIS DTS System)*	—
Guantes desechables	—
Patrón de calibración SysCheck	301078
Tapones penetrables APTIMA	105668
Tapones no penetrables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para los kits de 100 pruebas *Soluciones de reconstitución de los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda CL0041(100 tapones)* *TCR y reactivo de selección 501604 (100 tapones)*	—
Tapones de repuesto para los kits de 50 pruebas *Soluciones de reconstitución de los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda 501603 (100 tapones)* *TCR y reactivo de selección 501604 (100 tapones)*	—

Materiales opcionales

	Nº de catálogo
Kit de controles APTIMA	301110
Potenciador de lejía GEN-PROBE *para la limpieza sistemática de las superficies y el equipo*	302101

Procedimiento de prueba del TIGRIS DTS System

Nota: *Consulte el TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual del usuario del TIGRIS DTS System) para información adicional sobre los procedimientos del TIGRIS DTS System.*

A. Preparación del área de trabajo

Limpie las superficies de trabajo en las que van a preparar los reactivos y las muestras. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5% - 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua. No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa en la que vayan a preparar los reactivos y las muestras con cubiertas absorbentes, con forro de plástico, que estén limpias para mesas de laboratorio

B. Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit

Nota: *La reconstitución de los reactivos debe realizarse antes de iniciar cualquier tarea en el TIGRIS DTS System.*

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación GC, enzimático y de sonda GC para los kits de 100 pruebas y de 50 pruebas, combine los frascos de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución. Si las soluciones de reconstitución están refrigeradas, espere a que se equilibren a la temperatura ambiente antes de utilizarlas.
   a. Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado. Asegúrese de que existe correspondencia de colores en las etiquetas de la solución de reconstitución y del reactivo liofilizado antes de conectar el collar de reconstitución.
   b. Compruebe los números de lote en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados.
   c. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte con firmeza el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial (figura 2, paso 1).
   d. Abra la botella de la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
   e. Mientras sostiene el frasco con la solución de reconstitución sobre la mesa, inserte firmemente el otro extremo del collar de reconstitución en la abertura del frasco (figura 2, paso 2).
   f. Invierta lentamente el conjunto de los frascos. Deje que la solución pase del frasco al vial de vidrio (figura 2, paso 3).
   g. Agite con una rotación suave la solución en el vial para mezclarla. Evite que se forme espuma al agitar el vial (figura 2, paso 4).
   h. Espere a que el reactivo liofilizado pase a la solución y luego invierta de nuevo el conjunto de los frascos, inclinándolo a un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (figura 2, paso 5). Deje que todo el líquido regrese a la botella de plástico.

i. Quite el collar de reconstitución y el vial de vidrio (figura 2, paso 6).

j. Vuelva a tapar el frasco.

- Para los frascos para 50 pruebas, desprenda y deseche la etiqueta superior. Anote las iniciales del usuario, la fecha de reconstitución y el número de lote del reactivo liofilizado en la otra etiqueta (figura 2, paso 7).
- Para los frascos de 100 pruebas, anote las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución directamente en la etiqueta (figura 3).

k. Deseche el collar de reconstitución y el vial de vidrio (figura 2, paso 8).

Advertencia: *Evite que se forme espuma al reconstituir los reactivos. La espuma compromete la detección de nivel en el TIGRIS DTS System.*

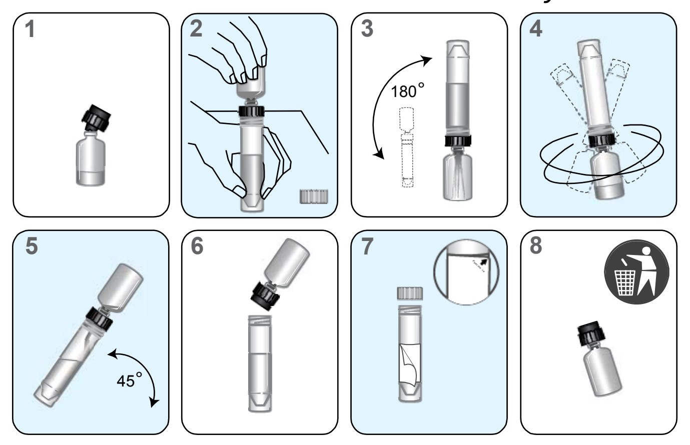


Figura 2. Proceso de reconstitución del TIGRIS DTS System

2. Prepare el TCR de trabajo GC (wTCR GC) para el kit de 100 pruebas
   a. Empareje los frascos apropiados del TCR GC y TCR-B.
   b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados en el kit.
   c. Abra el frasco de TCR GC y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
   d. Abra el frasco de TCR-B y vierta todo su contenido en el frasco de TCR GC. Es normal que quede una pequeña cantidad de líquido en el frasco de TCR-B.
   e. Tape el frasco de TCR GC y agite con una rotación suave la solución para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.
   f. Anote en la etiqueta las iniciales del usuario y la fecha actual.
   g. Deseche el frasco y el tapón de TCR-B.
3. Prepare el TCR de trabajo GC (wTCR GC) para el kit de 50 pruebas
   a. Empareje los frascos apropiados del TCR GC y TCR-B.
   b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados en el kit.
   c. Abra el frasco de TCR GC y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.

d. Abra el frasco de TCR-B y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.

e. Extraiga la pipeta de transferencia de su envase.

f. Transfiera aproximadamente 2 mL de TCR GC al frasco de TCR-B. **No** deseche la pipeta de transferencia en este paso.

g. Vuelva a tapar el frasco de TCR-B y mezcle por inversión.

h. Transfiera el wTCR GC del frasco de TCR-B de vuelta al frasco de TCR GC.

i. Repita el paso h varias veces hasta que la mezcla en el frasco de TCR-B se haya transferido otra vez al frasco de TCR GC.

j. Tape el frasco de TCR GC y agite con una rotación suave la solución para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.

k. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta. Anote el número de lote del TCR-B.

l. Deseche el frasco y el tapón de TCR-B. Deseche la pipeta de transferencia.

4. Prepare el reactivo de selección

a. Compruebe que el número de lote del frasco de reactivo coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.

b. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.

Nota: *Mezcle bien mediante inversión suave todos los reactivos antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme espuma durante la inversión de los reactivos.*

C. Preparación de los reactivos para reactivos reconstituidos previamente

1. Los reactivos de amplificación GC, enzimático y de sonda GC previamente reconstituidos deben alcanzar la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de que se inicie el ensayo.
2. Si el reactivo de sonda GC reconstituido contiene precipitado que no se disuelve a temperatura ambiente, caliente el frasco tapado a una temperatura que no exceda de 62 °C durante 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, el reactivo de sonda GC se puede utilizar aunque queden residuos del precipitado. Mezcle el reactivo GC de sonda por inversión, con cuidado de que no se forme espuma, antes de cargarlo en el sistema.
3. Mezcle bien cada reactivo mediante inversión suave antes de cargarlo en el sistema. Evite que se forme espuma durante la inversión de los reactivos.
4. No llene hasta el borde los frascos de reactivos. El TIGRIS DTS System reconocerá y rechazará los frascos que estén llenos hasta el borde.

D. Manipulación de muestras

1. Deje que los controles y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes del procesamiento.
2. **No agite las muestras en un mezclador vórtex.**
3. Confirme visualmente que cada tubo de muestras satisface uno de los criterios siguientes:

a. La presencia de una sola torunda de recogida APTIMA azul en un tubo de transporte de muestras de torunda unisex.

b. La presencia de una sola torunda de recogida APTIMA rosa en un tubo de transporte de muestras de torunda vaginal.

c. Un volumen final de orina entre las líneas de llenado negras de un tubo de transporte de muestras de orina.

d. La ausencia de una torunda en el tubo de transporte de muestras APTIMA con muestras de Pap en medio líquido PreservCyt.

4. Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla:
   a. Si un tubo de muestra contiene burbujas en el espacio entre el líquido y el tapón, centrifúguelo durante 5 minutos con una RCF de 420 para eliminar las burbujas.
   b. Si un tubo de muestra tiene un volumen inferior al que se suele observar cuando se siguen las instrucciones de recogida, centrifúguelo durante 5 minutos a una RCF de 420 para asegurarse de que no quede líquido en el tapón.
   c. Si el nivel de líquido de un tubo de muestra de orina no está entre las dos líneas indicadoras negras de la etiqueta, la muestra debe rechazarse. No perfore un tubo sobrellenado.
   d. Si un muestra de orina contiene precipitados, caliente la muestra a 37 °C durante un máximo de 5 minutos. Si el precipitado no se vuelve a disolver, asegúrese visualmente de que éste no obstaculice la entrega de la muestra.

Nota: *Una incorrecta realización de los pasos 4a - c puede provocar una descarga de líquido del tapón del tubo de muestras.*

Nota: *Se pueden analizar hasta 3 alícuotas independientes de cada tubo de muestra. Los intentos de pipetear más de 3 alícuotas del tubo de muestras pueden dar lugar a errores por volumen insuficiente.*

E. Preparación del sistema

Configure el sistema y la lista de trabajo de acuerdo con las instrucciones del *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual del usuario del TIGRIS DTS System)* y las *Notas de procedimiento*.

Notas de procedimiento

A. Controles

1. Para trabajar correctamente con el software del ensayo APTIMA del TIGRIS DTS System, se requieren controles delantero y de fin. El Control positivo, CT / Control negativo, GC debe estar en la primera posición y en la penúltima posición de una lista de trabajo. Esta etiqueta de control es rosa. El texto de la etiqueta es «CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC». El Control positivo, GC / Control negativo, CT debe estar en la segunda posición y en la última posición de una lista de trabajo. Esta etiqueta de control es azul-verdosa. El texto de la etiqueta es «CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT».
2. Cada tubo de control APTIMA se puede analizar una vez. Los intentos de pipetear más de una vez del tubo pueden dar lugar a errores por volumen insuficiente.

B. Temperatura

La temperatura ambiente se define como de 15 °C a 30 °C.

C. Talco de guantes

Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de talco en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin talco.

D. Protocolo de supervisión de la contaminación en laboratorios para el TIGRIS DTS System

Existen numerosos factores específicos de los laboratorios que pueden contribuir a la contaminación, incluido el volumen de la prueba, el flujo de trabajo, la prevalencia de la enfermedad y otras actividades de laboratorio. Estos factores deben tenerse en consideración al establecerse la frecuencia con que se supervisará la contaminación. Los intervalos para la supervisión de la contaminación deben establecerse en función de las prácticas y procedimientos de cada laboratorio.

Para supervisar la contaminación del laboratorio, se puede realizar el siguiente procedimiento usando el kit de recogida de muestras de torunda unisex APTIMA para muestras de torunda endocervical y uretral masculina:

1. Etiquete los tubos de transporte de torunda con los números correspondientes a las áreas que se van a analizar.
2. Extraiga la torunda para recogida de muestras (aplicador azul con impresiones verdes) de su envase, humedezca la torunda en el medio de transporte de torunda y pásela por el área designada con un movimiento circular.
3. Inserte inmediatamente la torunda en el tubo de transporte.
4. Quiebre con cuidado el bastoncillo de la torunda en la línea con la muesca; tenga cuidado de que el contenido no salpique.
5. Vuelva a tapar bien el tubo de transporte de torunda.
6. Repita los pasos del 2 al 5 en todas las áreas en las que se vaya a aplicar la torunda.

Si los resultados son positivos o equívocos para GC, consulte *Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente*. Para información adicional sobre la supervisión de la contaminación específica del TIGRIS DTS System, consulte el *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual del usuario del TIGRIS DTS System)*.

Sistema PANTHER

PANTHER

Los reactivos para el ensayo APTIMA GC se indican a continuación para el sistema PANTHER. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit para el ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA, 100 pruebas (2 cajas y 1 kit de controles) (Nº de catálogo 302927)

Caja refrigerada para el ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA (caja 1 de 2) (almacenar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
A	**Reactivo de amplificación GC APTIMA** *Ácidos nucleicos no infecciosos secados en solución de tampón con un contenido de agente de volumen < 5%.*	1 vial
E	**Reactivo enzimático GC APTIMA** *Transcriptasa inversa y RNA polimerasa secadas en solución de tampón HEPES con un contenido de reactivo de volumen < 10%.*	1 vial
P	**Reactivo de sonda GC APTIMA** *Sondas de DNA quimioluminiscentes y no infecciosas secadas en solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5%.*	1 vial
TCR-B	**Reactivo de captura seleccionada B GC APTIMA** *Ácido nucleico no infeccioso en solución de tampón con < 5 % de detergente.*	1 x 0,30 mL

Caja a temperatura ambiente para el ensayo de Neisseria gonorrhoeae APTIMA (caja 2 de 2) (almacenar entre 15 °C y 30 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
AR	**Solución de reconstitución de reactivo de amplificación GC APTIMA** *Solución acuosa con conservantes.*	1 x 11,9 mL
ER	**Solución de reconstitución de reactivo enzimático GC APTIMA** *Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.*	1 x 6,3 mL
PR	**Solución de reconstitución de reactivo de sonda GC APTIMA** *Solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5%.*	1 x 15,2 mL
S	**Reactivo de selección GC APTIMA** *Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.*	1 x 43,0 mL
TCR	**Reactivo de captura seleccionada GC APTIMA** *Solución de tampón sal con un contenido de oligómeros de captura y fase sólida.*	1 x 26,0 mL
	Collares de reconstitución	3
	Hoja de códigos de barras de lote maestro	1 hoja

Kit de controles APTIMA
(almacenar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
PGC/ NCT	**Control positivo, GC / Control negativo, CT APTIMA** *Ácido nucleico GC no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5%. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 50 células GC (250 fg/ensayo*).*	5 x 1,7 mL
PCT/ NGC	**Control positivo, CT / Control negativo, GC APTIMA** *Ácido nucleico CT no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5%. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 1 IFU CT (5 fg/ensayo*).*	5 x 1,7 mL

*Los equivalentes de rRNA se calcularon a partir del tamaño del genoma y de la razón DNA:RNA por célula estimada de cada organismo.

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: *Se indica el número de catálogo de los materiales que pueden adquirirse de Gen-Probe, a menos que se especifique lo contrario.*

	Nº de catálogo
Sistema PANTHER	303095
Kit de fluidos del ensayo APTIMA *(solución de lavado APTIMA, tampón para fluido de desactivación APTIMA y reactivo de aceite APTIMA)*	303014 (1.000 pruebas)
Kit de Auto Detect APTIMA	303013 (1.000 pruebas)
Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)	104772-02
Juego de bolsas de desechos PANTHER	902731
Cubierta para contenedor de desechos PANTHER	902714
O kit para ciclo PANTHER *contiene MTU, bolsas de desechos, cubiertas para contenedores de desechos, fluidos de ensayo y reactivos Auto Detect*	303096 (5.000 pruebas)
Puntas conductoras de 1.000 µL, detectoras de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de transferencia de muestras APTIMA *para utilizar con muestras en solución PreservCyt*	301154C
Kit de recogida de muestras de torunda vaginal APTIMA	301162
Kit de recogida de muestras de torunda unisex APTIMA para muestras de torunda endocervical y uretral masculina	301041
Kit de recogida de muestras de orina APTIMA para muestras de orina masculina y femenina	301040
Tubos de transporte de muestras de orina APTIMA para muestras de orina masculina y femenina	105575
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5% al 7% (0,7 M a 1,0 M)	—
Guantes desechables	—
Patrón de calibración SysCheck	301078

Tapones penetrables APTIMA	105668
Tapones no penetrables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para los kits de 100 pruebas	—
Soluciones de reconstitución de los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda *CL0041 (100 tapones)*	
TCR y reactivo de selección *501604 (100 tapones)*	

Materiales opcionales

	Nº de catálogo
Kit de controles APTIMA	301110
Potenciador de lejía GEN-PROBE *para la limpieza sistemática de las superficies y el equipo*	302101

Procedimiento de prueba del sistema PANTHER

Nota: *Consulte el PANTHER System Operator's Manual (Manual del usuario del sistema PANTHER) para información adicional sobre los procedimientos del sistema PANTHER.*

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo en las que van a preparar los reactivos y las muestras. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5% - 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua. No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa en la que se vayan a preparar los reactivos y las muestras con cubiertas absorbentes, con forro de plástico, que estén limpias para mesas de laboratorio.

B. Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit

Nota: *La reconstitución de los reactivos debe realizarse antes de iniciar cualquier tarea en el sistema PANTHER.*

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación GC, enzimático GC y de sonda GC, combine los frascos de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución. Si están refrigeradas, permita que las soluciones de reconstitución alcancen la temperatura ambiente antes de usarlas.
   a. Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado. Asegúrese de que existe correspondencia de colores en las etiquetas de la solución de reconstitución y del reactivo antes de conectar el collar de reconstitución.
   b. Compruebe los números de lote en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados.
   c. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte con firmeza el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial (figura 3, paso 1).
   d. Abra la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
   e. Mientras sostiene el frasco de solución sobre la mesa, inserte firmemente el otro extremo del collar de reconstitución en el frasco (figura 3, paso 2).
   f. Invierta lentamente el conjunto de los frascos. Deje que la solución pase del frasco al vial de vidrio (figura 3, paso 3).

g. Agite con una rotación suave la solución del frasco para mezclarla. Evite que se forme espuma al agitar el frasco (figura 3, paso 4).

h. Espere a que el reactivo liofilizado pase a la solución y luego invierta de nuevo el conjunto de los frascos, inclinándolos a un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (figura 3, paso 5). Deje que todo el líquido regrese a la botella de plástico.

i. Retire el collar de reconstitución y el vial de vidrio (figura 3, paso 6).

j. Tape la botella de plástico. Anote las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (figura 3, paso 7).

k. Deseche el collar y el vial (figura 3, paso 8).

Advertencia: *Evite que se forme espuma al reconstituir los reactivos. La espuma compromete la detección de nivel en el sistema PANTHER.*

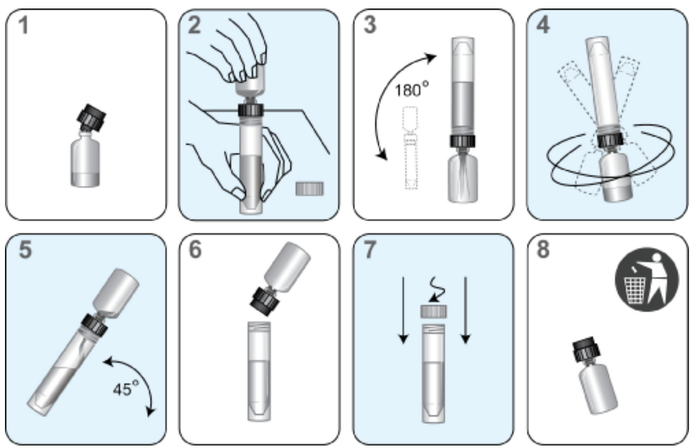


Figura 3. Proceso de reconstitución del sistema PANTHER

2. Prepare el reactivo de captura seleccionada de trabajo GC (wTCR GC)
   a. Empareje los frascos apropiados del TCR GC y TCR-B.
   b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados en el kit.
   c. Abra el frasco de TCR GC y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
   d. Abra el frasco de TCR-B y vierta todo su contenido en el frasco de TCR GC. Es normal que quede una pequeña cantidad de líquido en el frasco de TCR-B.
   e. Tape el frasco de TCR GC y agite con una rotación suave la solución para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.
   f. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.
   g. Deseche el frasco y el tapón de TCR-B.
3. Prepare el reactivo de selección
   a. Compruebe que el número de lote del frasco de reactivo coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
   b. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.

Nota: *Mezcle bien los reactivos de amplificación GC, enzimático GC, de sonda GC y de selección GC mediante inversión suave antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme espuma durante la inversión de los reactivos.*

C. Preparación de los reactivos para reactivos reconstituidos previamente

1. Los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda previamente reconstituidos deben alcanzar la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de que se inicie el ensayo.
2. Si el reactivo de sonda GC reconstituido contiene precipitado que no se disuelve a temperatura ambiente, caliente el frasco tapado a una temperatura que no exceda de 62 °C durante 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, el reactivo de sonda GC se puede utilizar aunque queden residuos del precipitado. Mezcle el reactivo GC de sonda por inversión, con cuidado de que no se forme espuma, antes de cargarlo en el sistema.
3. Mezcle bien cada reactivo mediante inversión suave antes de cargarlo en el sistema. Evite que se forme espuma durante la inversión de los reactivos.
4. No llene hasta el borde los frascos de reactivos. El sistema PANTHER reconocerá y rechazará los frascos que estén llenos hasta el borde.

D. Manipulación de muestras

1. Deje que los controles y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes del procesamiento.
2. **No agite las muestras en un mezclador vórtex.**
3. Confirme visualmente que cada tubo de muestras satisface uno de los criterios siguientes:
   a. La presencia de una sola torunda de recogida APTIMA azul en un tubo de transporte de muestras de torunda unisex.
   b. La presencia de una sola torunda de recogida APTIMA rosa en un tubo de transporte de muestras de torunda vaginal.
   c. Un volumen final de orina entre las líneas de llenado negras de un tubo de transporte de muestras de orina.
   d. La ausencia de una torunda en el tubo de transporte de muestras APTIMA con muestras de Pap en medio líquido PreservCyt.
4. Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla:
   a. Si un tubo de muestra contiene burbujas en el espacio entre el líquido y el tapón, centrifúguelo durante 5 minutos a una RCF de 420 para eliminar las burbujas.
   b. Si un tubo de muestra tiene un volumen inferior al que se suele observar cuando se siguen las instrucciones de recogida, centrifúguelo durante 5 minutos a una RCF de 420 para asegurarse de que no quede líquido en el tapón.
   c. Si el nivel de líquido de un tubo de muestra de orina no está entre las dos líneas indicadoras negras de la etiqueta, la muestra debe rechazarse. No perfore un tubo sobrellenado.
   d. Si un muestra de orina contiene precipitados, caliente la muestra a 37 °C durante un máximo de 5 minutos. Si el precipitado no se vuelve a disolver, asegúrese visualmente de que éste no obstaculice la entrega de la muestra.

Nota: *Una incorrecta realización de los pasos 4a - c puede provocar una descarga de líquido del tapón del tubo de muestras.*

Nota: *Se pueden analizar hasta 3 alícuotas independientes de cada tubo de muestra. Los intentos de pipetear más de 3 alícuotas del tubo para muestras pueden dar lugar a errores de procesamiento.*

E. Preparación del sistema

1. Configure el sistema de acuerdo con las instrucciones del *PANTHER System Operator's Manual (Manual del usuario del sistema PANTHER)* y las *Notas de procedimiento*. Asegúrese de que se utilicen las gradillas para reactivos y los adaptadores de TCR del tamaño adecuado.
2. Cargue las muestras.

Notas de procedimiento

A. Controles

1. Para trabajar correctamente con el software del ensayo APTIMA del sistema PANTHER, se requiere un par de controles. Los tubos de Control positivo, CT / Control negativo, GC, y de Control positivo, GC / Control negativo, CT, pueden cargarse en cualquier posición de la gradilla o en cualquier carril de la plataforma de muestras en el sistema PANTHER. El pipeteado de la muestra del paciente comenzará cuando se cumpla una de las dos siguientes condiciones:
   a. El sistema está procesando actualmente un par de controles.
   b. Los resultados válidos para los controles se registran en el sistema.
2. Una vez que los tubos de controles se hayan pipeteado y se estén procesando para un kit de reactivos específico, las muestras de paciente pueden analizarse con el kit de reactivos de ensayo asociado hasta 24 horas **a menos que**:
   a. Los controles son no válidos.
   b. El kit de reactivos de ensayo asociado se ha retirado del sistema.
   c. El kit de reactivos de ensayo asociado ha excedido los límites de estabilidad.
3. Cada tubo de control APTIMA se puede analizar una vez. Los intentos de pipetear más de una vez del tubo pueden dar lugar a errores de procesamiento.

B. Temperatura

La temperatura ambiente se define como de 15 °C a 30 °C.

C. Talco de guantes

Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de talco en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin talco.

D. Protocolo de supervisión de la contaminación en laboratorios para el sistema PANTHER

Existen numerosos factores específicos de los laboratorios que pueden contribuir a la contaminación, incluido el volumen de la prueba, el flujo de trabajo, la prevalencia de la enfermedad y otras actividades de laboratorio. Estos factores deben tenerse en consideración al establecerse la frecuencia con que se supervisará la contaminación. Los intervalos para la supervisión de la contaminación deben establecerse en función de las prácticas y procedimientos de cada laboratorio.

Para supervisar la contaminación del laboratorio, se puede realizar el siguiente procedimiento usando el kit de recogida de muestras de torunda unisex APTIMA para muestras de torunda endocervical y uretral masculina:

1. Etiquete los tubos de transporte de torunda con los números correspondientes a las áreas que se van a analizar.

2. Extraiga la torunda para recogida de muestras (aplicador azul con impresiones verdes) de su envase, humedezca la torunda en el medio de transporte de torunda y pásela por el área designada con un movimiento circular.
3. Inserte inmediatamente la torunda en el tubo de transporte.
4. Quiebre con cuidado el bastoncillo de la torunda en la línea con la muesca; tenga cuidado de que el contenido no salpique.
5. Vuelva a tapar bien el tubo de transporte de torunda.
6. Repita los pasos del 2 al 5 en todas las áreas en las que se vaya a aplicar la torunda.

Si los resultados de GC son positivos o ambiguos, consulte *Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente*. Para obtener información adicional específica para el sistema PANTHER sobre el control de la contaminación, consulte al servicio técnico de Gen-Probe.

Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente

A. Interpretación de la prueba

El software del ensayo APTIMA interpreta automáticamente los resultados de la prueba utilizando el protocolo GC. Los resultados de las pruebas pueden ser negativos, equívocos, positivos o no válidos de acuerdo con las RLU totales en el paso de detección (véase más adelante). Un resultado de prueba puede ser no válido por encontrarse algunos valores de RLU fuera de los rangos normales esperados. Los resultados iniciales equívocos o no válidos de la prueba deben volverse a analizar.

Interpretación de la prueba	RLU totales (x1.000)
Negativo	0* a < 50
Equívoco	50 a < 100
RLU baja positivo[1,2,3]	100 a < 2.000
Positivo[1,2]	2.000 a < 12.000
No válido	0* o > 12.000

* Un resultado de cero (0 x 1.000) RLU en el informe del ciclo representa un valor entre cero y 999 RLU. Los valores de RLU inferiores a 160 en sistemas DTS, o a 690 en el TIGRIS DTS System o el sistema PANTHER, se notificarán como no válidos.

[1] Según las directrices de los CDC, «se deberían considerar análisis adicionales sistemáticos para personas con pruebas de cribado para CT o GC positivas cuando la información sobre los factores de riesgo o las encuestas actuales indiquen que la prevalencia es baja, lo que daría lugar a VPP más bajos (por ejemplo, < 90%)». Consulte las directrices de los CDC para información detallada sobre pruebas adicionales y tratamiento de pacientes después de un cribado positivo (1).

[2] Consulte la tabla 3 para la distribución de las RLU de los resultados. La magnitud de RLU no es indicativa de la concentración del organismo en la muestra.

[3] En el rango positivo bajo, los datos sugieren que los resultados positivos se deberían interpretar con precaución, teniendo en cuenta que la probabilidad de un positivo falso podría ser superior a la de un positivo verdadero.

B. Resultados del control de calidad y validez

El control negativo para GC APTIMA, que está etiquetado «CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC» y el control positivo para GC APTIMA, que está etiquetado «CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT», actúan como controles para los pasos de captura seleccionada, amplificación y detección del ensayo. En cumplimiento de las directrices o requisitos de las normativas locales, regionales y nacionales o de las organizaciones de acreditación, se pueden incluir controles adicionales para lisis celular y estabilización del RNA. El control positivo para GC, que está etiquetado «CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT», contiene rRNA de GC no infeccioso. Si se desea, se pueden solicitar controles adicionales en la forma de kit. La preparación correcta de las muestras se confirma visualmente por la presencia de una sola torunda de recogida APTIMA en un tubo de transporte de muestras en torunda, un volumen final de orina entre las líneas de llenado negras de un tubo de transporte de muestras de orina, o la ausencia de una torunda en un tubo de transferencia de muestras APTIMA para muestras de Pap en medio líquido.

Los controles positivos deben producir los siguientes resultados de la prueba:

Control	RLU totales (x1.000)	Resultado de GC
Control positivo, CT / Control negativo, GC	0* y < 50	Negativo
Control positivo, GC / Control negativo, CT	≥ 100 y < 12.000	Positivo

*   Un resultado de cero (0 x 1.000) RLU en el informe del ciclo representa un valor entre cero y 999 RLU. Los valores de RLU inferiores a 160 en sistemas DTS, o a 690 en el TIGRIS DTS System o el sistema PANTHER, se notificarán como no válidos.

1. El software del ensayo APTIMA evalúa automáticamente los controles conforme a los criterios anteriores y presenta el estado del ciclo como aprobado (PASS) si se cumplen los criterios del control del ciclo o como fallido (FAIL) si los criterios no se cumplen.
2. Si el estado del ciclo es FAIL, todos los resultados de la prueba en el mismo ciclo son no válidos y no se deben registrar.
3. Cada laboratorio deberá poner en práctica los procedimientos de control adecuados para satisfacer los requisitos de las normativas CLIA (sección 493.1256).

Nota: *Consulte Identificación y solución de problemas o póngase en contacto con el servicio técnico de Gen-Probe para recibir asistencia con los controles fuera de rango de los sistemas DTS.*

4. Un parámetro del TIGRIS DTS System permite a cada centro especificar una frecuencia de «encuadre de controles», lo cual permite colocar conjuntos de controles adicionales a intervalos definidos dentro de la lista de trabajo. Si se especifica este parámetro, el TIGRIS DTS System requerirá que se coloque un conjunto de controles después del número de muestras definido en el encuadre de control. El TIGRIS DTS System evalúa automáticamente cada control de la lista de trabajo de acuerdo con los criterios anteriores e invalidará todas las muestras en el encuadre o los encuadres de controles afectados si no se cumplen los criterios de los controles. Consulte el *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual del usuario del TIGRIS DTS System)* para información adicional.
5. Los controles negativos puede que no sean efectivos en la supervisión del arrastre aleatorio. Consulte *Rendimiento analítico del TIGRIS DTS System* para conocer los resultados procedentes de un estudio de arrastre analítico de diana alta que se realizó para demostrar el control de la contaminación cruzada en el TIGRIS DTS System. Consulte *Rendimiento analítico del sistema PANTHER* para conocer los resultados procedentes de un estudio de arrastre analítico de diana alta que se realizó para demostrar el control de la contaminación cruzada en el sistema PANTHER.

C. Control de preparación de muestras (opcional)

El control negativo para GC APTIMA, que está etiquetado «CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC» y el control positivo para GC APTIMA, que está etiquetado «CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT», actúan como controles para los pasos de captura seleccionada, amplificación y detección, y deben incluirse en cada ciclo del ensayo. Si se desea, se pueden analizar controles para lisis celular y estabilización del RNA de acuerdo con los requisitos de las organizaciones de acreditación pertinentes o los procedimientos de cada laboratorio. Las muestras con un resultado positivo conocido pueden servir de controles si se preparan y analizan junto con muestras desconocidas. Las muestras utilizadas como controles de preparación deben almacenarse, manipularse y analizarse conforme a las instrucciones del prospecto. Los controles de preparación de muestras deben interpretarse de la misma forma que las muestras de pruebas de pacientes. Consulte *Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente*, *Resultados de pruebas de pacientes*.

D. Resultados de pruebas de pacientes

1. Si los controles de un ciclo no generan los resultados esperados, no deben registrarse los resultados de la prueba en muestras de pacientes en ese mismo ciclo.
2. Resultados de muestras de torunda, de orina y de Pap en medio líquido PreservCyt. Consulte *Notas* más abajo.

a. Resultados iniciales

GC pos*	Positivo para rRNA de GC.
GC neg	Supuestamente negativo para GC rRNA.
GC equiv	La muestra debe volverse a analizar.
No válido	La muestra debe volverse a analizar.

b. Resultados de la prueba repetida

GC pos*	Positivo para GC rRNA.
GC neg	Supuestamente negativo para GC rRNA.
GC equiv	Indeterminado, se debe recoger una nueva muestra.
No válido	Indeterminado, se debe recoger una nueva muestra.

*En esta categoría se incluyen los resultados de muestras positivas con RLU bajas. Consulte *Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente* más arriba.

Notas

- El primer resultado válido y no equívoco de cada analito es el resultado que debe registrarse.
- Se recomienda ponderar cuidadosamente los datos de rendimiento al interpretar los resultados del ensayo APTIMA GC para individuos asintomáticos o para cualquier individuo de poblaciones con baja prevalencia.
- Un resultado negativo no impide la presencia de una infección GC ya que los resultados dependen de una recogida de muestras correcta, de la ausencia de inhibidores y de si se detecta suficiente rRNA. Los resultados de la prueba pueden verse afectados por la recogida y almacenamiento incorrectos de la muestra, un error técnico, la confusión de muestras o niveles de diana por debajo del límite de detección del ensayo.
- Se recomienda analizar una muestra endocervical en pacientes femeninas clínicamente sospechosas de padecer una infección clamidial o gonocócica. Si se recogen ambas muestras, de Pap y de torunda endocervical, la muestra de Pap en medio líquido PreservCyt debe recogerse antes de la muestra de torunda endocervical.

Limitaciones

A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de las instrucciones indicadas en este prospecto puede producir resultados erróneos.

B. No se han evaluado los efectos del uso de tampones, lavados vaginales y variables de recogida de muestras para determinar su impacto en la detección de GC.

C. La presencia de mucosidad en las muestras endocervicales no interfiere con la detección de GC con el ensayo APTIMA GC. No obstante, para garantizar una obtención correcta de muestras endocervicales, se debe eliminar el exceso de mucosidad.

D. La recogida de muestras de orina, de torunda vaginal y de Pap en medio líquido PreservCyt no está concebida para sustituir a los exámenes cervicales y a las muestras endocervicales para el diagnóstico de infecciones del aparato genitourinario femenino. Las pacientes pueden padecer cervicitis, uretritis, infecciones de las vías urinarias o infecciones vaginales debido a otras causas o infecciones simultáneas con otros agentes.

E. El ensayo APTIMA GC no pretende servir para la evaluación de sospechas de abusos sexuales ni para otras indicaciones médico-legales. En aquellos pacientes en los que un resultado positivo falso pueda tener un impacto psicológico o social adverso, los CDC recomiendan repetir la prueba con un método que utilice otra tecnología (1).

F. La fiabilidad de los resultados depende de la recogida adecuada de las muestras. Dado que el sistema de transporte que se utiliza para este ensayo no permite la valoración microscópica de la idoneidad de las muestras, los clínicos deben recibir formación en las técnicas de recogida de muestras adecuadas. Consulte el prospecto del kit de recogida de muestras APTIMA adecuado.

G. El fracaso o éxito terapéutico no se puede determinar con el ensayo APTIMA GC, ya que el ácido nucleico puede persistir tras un tratamiento antimicrobiano adecuado.

H. Los resultados del ensayo APTIMA GC deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos a disposición del clínico.

I. Un resultado negativo no impide una posible infección ya que los resultados dependen de una recogida de muestras correcta. Los resultados de la prueba pueden verse afectados por la recogida incorrecta de la muestra, un error técnico, la confusión de muestras o niveles de diana por debajo del límite de detección del ensayo.

J. El ensayo APTIMA GC proporciona resultados cualitativos. Por lo tanto, no se puede establecer una correlación entre la magnitud de una señal positiva del ensayo y el número de organismos existentes en la muestra.

K. Para los estudios clínicos con muestras de torunda vaginal, torunda endocervical, torunda uretral masculina y muestras de orina, el rendimiento para la detección de GC se obtuvo de poblaciones con alta prevalencia. Los resultados positivos en poblaciones de baja prevalencia deben interpretarse con cautela sin olvidar que la probabilidad de un positivo falso puede ser mayor que la de un positivo real.

L. Para los estudios clínicos de muestras de Pap en medio líquido PreservCyt, el rendimiento del ensayo APTIMA GC en la detección de GC se deriva principalmente de poblaciones con baja prevalencia. No obstante, los resultados positivos en poblaciones

con baja prevalencia deben interpretarse con cautela sin olvidar que la probabilidad de un positivo falso puede ser mayor que la de un positivo real.

M. No se ha evaluado el rendimiento del kit de transferencia de muestras APTIMA para el análisis de la misma muestra de Pap en medio líquido PreservCyt tanto antes como después del procesamiento de la citología ThinPrep.

N. No se ha evaluado el uso con los ensayos APTIMA de muestras de Pap en medio líquido PreservCyt procesadas con instrumentos distintos al procesador ThinPrep 2000.

O. Las muestras de torunda vaginal recogidas por las pacientes son una opción para el cribado de mujeres cuando el examen pélvico no está indicado.

P. La aplicación de las muestras de torunda vaginal recogidas por la paciente se limita a centros médicos que cuentan con recursos y asesoramiento para explicar los procedimientos y las precauciones.

Q. El ensayo APTIMA GC no ha sido validado para su uso con muestras de torunda vaginal recogidas por las pacientes en su domicilio.

R. No se ha evaluado el rendimiento de las muestras de torunda vaginal en mujeres embarazadas.

S. No se ha evaluado el rendimiento de las muestras en torundas endocervicales, vaginales o uretrales masculinas, las muestras de orina masculina o femenina, ni las muestras de Pap en medio líquido PreservCyt en adolescentes menores de 16 años.

T. Debido al bajo valor predictivo de un resultado positivo observado en los varones asintomáticos participantes en el estudio clínico, no se recomienda analizar muestras de exudado uretral de varones asintomáticos.

U. No se ha determinado el rendimiento del TIGRIS DTS System a altitudes superiores a los 2.240 m (7.355 pies). En laboratorios situados a altitudes superiores a los 2.240 m (7.355 pies) se realizarán verificaciones volumétricas y estudios específicos del ensayo adicionales antes de la instalación y del proceso de validación, o como parte de los mismos.

V. No se ha evaluado el rendimiento del sistema PANTHER a altitudes superiores a los 2.000 m (6.561 pies).

W. No hay evidencia de degradación de los ácidos nucleicos en la solución PreservCyt. Si una muestra de Pap en medio líquido PreservCyt tiene cantidades pequeñas de material celular GC, puede producirse una distribución desigual de este material celular. Además, en comparación con la recogida directa de las muestras con los medios de transporte de torunda APTIMA, el volumen adicional de la solución PreservCyt produce una mayor dilución del material de la muestra. Estos factores pueden afectar a la capacidad para detectar pequeñas cantidades de organismos en el material recogido. Si los resultados negativos de la muestra no concuerdan con la impresión clínica, puede ser necesario recoger una nueva muestra.

X. Los clientes deberán validar independientemente un proceso de transferencia LIS.

Resultados del estudio clínico

Las características de rendimiento del ensayo APTIMA GC se establecieron en dos investigaciones clínicas realizadas en Norteamérica. La primera investigación clínica estableció la sensibilidad, especificidad y valores predictivos del ensayo APTIMA GC utilizando muestras de torunda endocervical, vaginal y uretral masculina recogidas por el clínico, muestras de torunda vaginal recogidas por la paciente, y muestras de orina masculina y femenina. La primera investigación también evaluó la precisión del ensayo APTIMA GC cuando se realizó de acuerdo con las directrices NCCLS (12). La segunda investigación clínica estableció los valores de la sensibilidad, la especificidad y predictivos del ensayo APTIMA GC utilizando PreservCyt (un componente del sistema ThinPrep 2000) como medio de transporte. Las muestras de Pap en medio líquido PreservCyt se evaluaron también para precisión en-laboratorio con el ensayo APTIMA GC.

Valores esperados de los sistemas DTS

Prevalencia

La prevalencia de GC en poblaciones de pacientes depende de factores de riesgo tales como la edad, el sexo, la presencia de síntomas, el tipo de clínica y el método de prueba. En las tablas 1 *y* 1a *se muestra un resumen de la prevalencia de* GC en Norteamérica, por tipo de muestra, de acuerdo con el ensayo APTIMA GC, para dos investigaciones clínicas. Consulte los apartados *Estudio clínico de muestras de torunda endocervical, torunda uretral masculina, torunda vaginal y orina* y *Estudio de muestras clínicas de Pap en medio líquido PreservCyt* en la sección *Rendimiento clínico en sistemas DTS* para una descripción de las características de rendimiento de las muestras clínicas.

Tabla 1: Prevalencia de N. gonorrhoeae por centro clínico y general de acuerdo con los resultados del ensayo APTIMA GC

	% (Nº positivas/Nº analizadas)											
Centro	**TM**		**OM**		**TF**		**OF**		**TVP**		**TVC**	
1	21,4	(54/252)	21,4	(54/252)	6,1	(14/229)	5,7	(13/230)	6,4	(14/219)	6,1	(14/230)
2	26,5	(93/351)	20,1	(71/354)	16,1	(32/199)	15,0	(30/200)	16,2	(32/198)	16,6	(33/199)
3	0,0	(0/4)	0,0	(0/4)	4,4	(5/114)	3,5	(4/113)	3,6	(4/111)	3,5	(4/113)
4	N/C		N/C		2,3	(6/266)	1,9	(5/270)	2,2	(6/267)	3,0	(8/269)
5	5,5	(11/200)	5,5	(11/200)	1,5	(3/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)
6	14,5	(44/304)	13,4	(41/305)	8,2	(24/294)	5,7	(17/296)	8,3	(24/290)	7,5	(22/295)
7	5,8	(12/207)	5,8	(12/207)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)
8	N/C		N/C		2,0	(1/49)	2,0	(1/49)	2,1	(1/48)	2,0	(1/51)
Todos	16,2	(214/1318)	14,3	(189/1322)	5,9	(85/1452)	4,9	(72/1459)	5,8	(83/1434)	5,8	(84/1458)

TM = torunda uretral masculina; **OM** = orina masculina; **TF** = torunda endocervical femenina; **OF** = orina femenina; **TVP** = torunda vaginal recogida por la paciente; **TVC** = torunda vaginal recogida por el clínico.

Tabla 1a: Prevalencia de N. gonorrhoeae por centro clínico y general de acuerdo con los resultados del ensayo APTIMA GC utilizando muestras de Pap en medio líquido PreservCyt

Centro	**% (Nº positivas/Nº analizadas)**	
1	5,0	(5/100)
2	0,8	(1/124)
3	0,8	(4/475)
4	1,4	(4/287)
5	0,0	(0/297)
6	0,5	(2/364)
Todos	1,0	(16/1647)

Valores predictivos positivos y negativos para tasas de prevalencia hipotéticas en Norteamérica

Los valores predictivos positivos y negativos (VPP y VPN) calculados para diferentes tasas de prevalencia hipotéticas con el ensayo APTIMA GC se muestran en la tabla 2. Estos cálculos se basan en las tasas de prevalencia hipotéticas y en la sensibilidad y la especificidad generales calculadas a partir del estado de infección de los pacientes. La sensibilidad y especificidad generales para GC fueron del 97,6% y del 99,3%, respectivamente (tabla 2). El VPP y el VPN reales para muestras de torunda endocervical, vaginal y uretral masculina recogidas por el clínico, torunda vaginal recogidas por la paciente, y orina masculina y femenina, se muestran en la tabla 6 para cada centro clínico y en general. El VPP y el VPN reales para muestras de Pap en medio líquido PreservCyt se muestran en la tabla 6a.

Tabla 2: Valores predictivos positivos y negativos para tasas de prevalencia hipotéticas en Norteamérica

Tasa de prevalencia hipotética (%)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
1	97,6	99,3	58,7	100,0
2	97,6	99,3	74,1	100,0
5	97,6	99,3	88,1	99,9
10	97,6	99,3	94,0	99,7
15	97,6	99,3	96,1	99,6
20	97,6	99,3	97,2	99,4
25	97,6	99,3	97,9	99,2
30	97,6	99,3	98,4	99,0

Distribución de las RLU del ensayo APTIMA GC

La figura 4 muestra la distribución RLU del ensayo APTIMA GC para los siguientes tipos de muestras analizadas en el estudio clínico: de sujetos sintomáticos, muestras de torunda endocervical, vaginal y uretral masculina recogidas por el clínico y muestras de orina masculina y femenina recogidas por los pacientes; y de sujetos asintomáticos, muestras de torunda endocervical y vaginal recogidas por el clínico, y muestras de torunda vaginal y de orina masculina y femenina recogidas por los pacientes. La tabla 3 resume la distribución RLU para los resultados positivos totales y negativos totales, así como para los resultados positivos falsos y negativos falsos para estos tipos de muestras en relación con el estado de infección del paciente. En ciertos tipos de muestras, hay una tendencia hacia una proporción mayor de positivos verdaderos a medida que aumentan los valores de RLU.

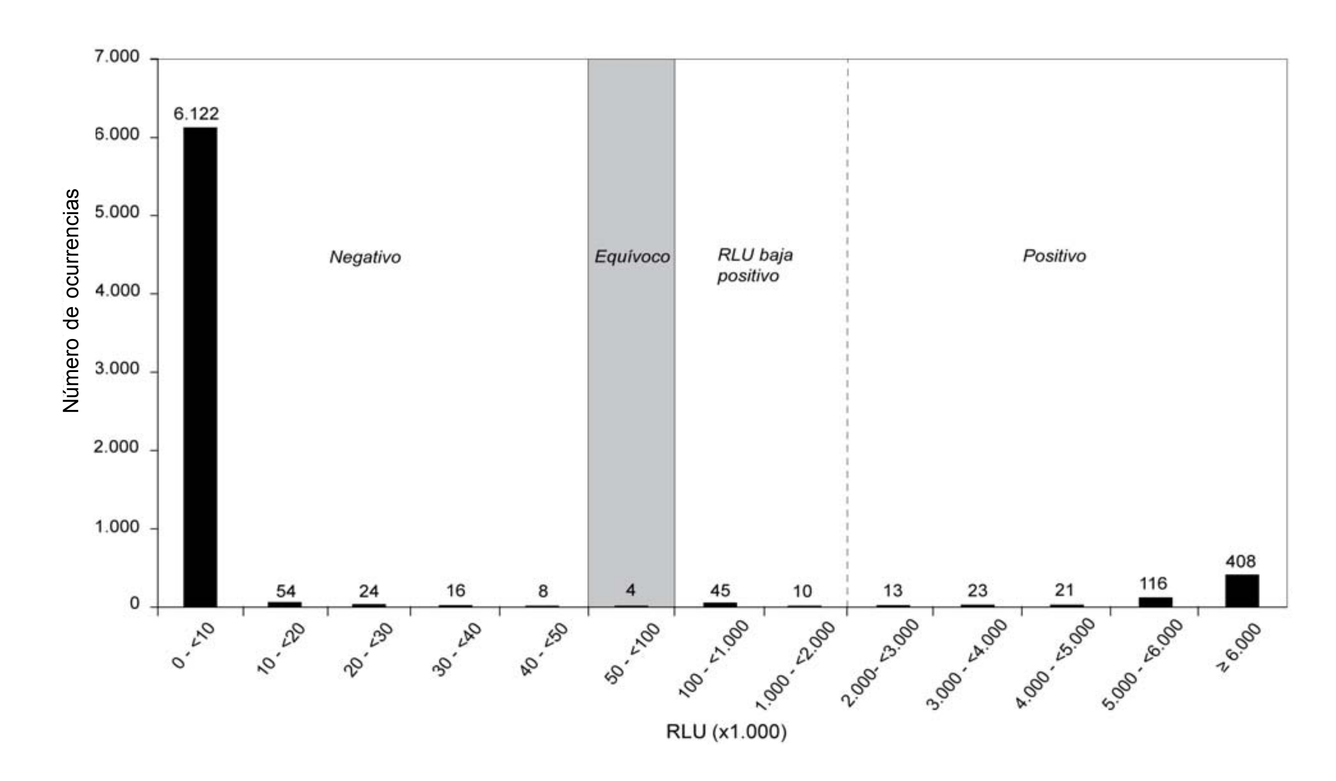


Figura 4. Frecuencia de la distribución de las RLU para el ensayo APTIMA GC

Tabla 3: Distribución de las RLU del ensayo APTIMA GC

	RLU (x 1.000)												
	0 - <10	**10 - <20**	**20 - <30**	**30 - <40**	**40 - <50**	**50 - <100**	**100 - <1.000**	**1.000 - <2.000**	**2.000 - <3.000**	**3.000 - <4.000**	**4.000 - <5.000**	**5.000 - <6.000**	**≥ 6.000**
Total de positivos						**-**	**45**	**10**	**13**	**23**	**21**	**116**	**408**
Total de positivos falsos						**-**	**35**	**6**	**2**	**4**	**0**	**3**	**0**
TVC						1	5	3	0	1	0	2	0
TVP						0	2	0	0	1	0	1	0
TF						2	12	1	0	0	0	0	0
TM						1	9	0	1	0	0	0	0
OF						0	2	0	0	1	0	0	0
OM						0	5	2	1	1	0	0	0
Total de negativos	**6.122**	**54**	**24**	**16**	**8**	**-**							
Total de negativos falsos	**7**	**2**	**1**	**2**	**1**	**-**							
TVC	2	0	0	0	0	-							
TVP	0	0	0	0	0	-							
TF	0	0	0	1	1	-							
TM	0	1	0	0	0	-							
OF	3	1	1	1	0	-							
OM	2	0	0	0	0	-							

TVC = torunda vaginal recogida por el clínico; **TVP** = torunda vaginal recogida por paciente asintomática solamente;
TF = torunda endocervical femenina; **TM** = torunda uretral masculina de hombres sintomáticos solamente;
OF = orina femenina; **OM** = orina masculina.
Una columna sombreada denota una zona equívoca.

Rendimiento clínico en sistemas DTS

Consulte el rendimiento clínico específico del TIGRIS DTS System en el apartado *Concordancia de las muestras clínicas del TIGRIS DTS System*, a continuación del apartado *Rendimiento analítico de los sistemas DTS*.

Estudio clínico de muestras de torunda endocervical, torunda uretral masculina, torunda vaginal y orina

Se obtuvieron muestras de torunda endocervical, vaginal y uretral masculina recogidas por el clínico, de torunda vaginal recogidas por la paciente, y de orina masculina y femenina de 2.787 hombres y mujeres, sintomáticos y asintomáticos, que asistían a clínicas de Obstetricia y Ginecología, de enfermedades de transmisión sexual (ETS), de adolescentes y de planificación familiar, en ocho centros clínicos en diferentes localidades geográficas de Norteamérica. Los sujetos se clasificaron como sintomáticos si informaron de síntomas como secreciones, disuria y dolor pélvico. Los sujetos se clasificaron como asintomáticos si no informaron síntomas. De los 1.392 sujetos asintomáticos inscritos en el estudio, 2 eran menores de 16 años de edad, 237 tenían edades entre 16 y 20, 423 entre 21 y 25, y 730 eran mayores de 25 años de edad. De los 1.395 sujetos sintomáticos inscritos en el estudio, 211 tenían edades entre 16 y 20, 494 entre 21 y 25, y 690 eran mayores de 25 años de edad.

Se recogieron tres muestras de cada uno de los 1.322 hombres elegibles. Se recogieron cinco muestras de cada una de las 1.465 pacientes femeninas elegibles. Para pacientes masculinos, se recogieron dos torundas uretrales aleatorizadas seguidas por una muestra de orina. Para pacientes femeninas, se recogió una muestra de orina seguida de una torunda vaginal recogida por la paciente, una torunda vaginal recogida por el clínico, y dos torundas endocervicales aleatorizadas. Los resultados GC del ensayo APTIMA GC y del ensayo APTIMA COMBO 2 se generaron a partir de las dos torundas vaginales, una torunda endocervical, una torunda uretral masculina, y una alícuota de orina masculina y femenina. La otra muestra de torunda endocervical, torunda uretral masculina y una alícuota de orina masculina y femenina se analizaron con otra NAAT disponible comercialmente. Las muestras de torunda endocervical y uretral masculina, y de orina masculina y femenina, analizadas en el ensayo APTIMA COMBO 2 y en las otras NAAT disponibles comercialmente se utilizaron como NAAT de referencia para determinar el estado de infección de cada sujeto. El análisis de las muestras se realizó en el centro de inscripción de los sujetos o en un centro de análisis externo.

Todos los cálculos de rendimiento se basaron en el número total de resultados de muestras de torunda endocervical, vaginal y uretral masculina recogidas por el clínico, y de orina masculina y femenina del ensayo APTIMA GC comparados con el algoritmo del estado de infección del paciente para cada sexo. En el algoritmo, la designación de un sujeto como infectado o no infectado con GC se basó en los resultados de muestras de torunda y de orina procedentes del ensayo APTIMA COMBO 2 disponible comercialmente y de la otra prueba NAAT disponible comercialmente. Los sujetos se consideraron infectados con GC si dos de las cuatro muestras de torunda y de orina dieron positivo en el ensayo APTIMA COMBO 2 y en la otra prueba NAAT de referencia (una muestra con resultado positivo en cada NAAT). Los sujetos se consideraron no infectados si menos de dos resultados de NAAT de referencia fueron positivos. El cultivo no se utilizó como una prueba de referencia.

Se utilizaron un total de 7.653 resultados del ensayo APTIMA GC para calcular la sensibilidad y la especificidad. La sensibilidad y la especificidad para GC por sexo, tipo de muestra y estado de síntomas, según corresponda, se presentan en la tabla 4. La tabla 6 presenta la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos del ensayo APTIMA GC comparados con el estado de infección del paciente para cada centro clínico y en general.

Las tablas 7a - 7e resumen el número de resultados de sujetos sintomáticos y asintomáticos designados como infectados o no infectados con GC de acuerdo con el algoritmo de estado de infección del paciente.

De los 2.787 sujetos inscritos, 15 eran sujetos con estado de paciente infectado por GC desconocido. Los sujetos se designaron con un estado de infección del paciente desconocido si faltaban resultados que hacían imposible alcanzar una determinación concluyente sobre el estado de infección. Los resultados de estos sujetos no se incluyeron en ninguno de los cálculos de rendimiento. De los 7.704 resultados del ensayo APTIMA GC, hubo 22 muestras (0,29%) que produjeron inicialmente resultados no válidos o equívocos. Tras repetir la prueba en estas muestras, 4 siguieron dando un resultado equívoco y se excluyeron de los análisis. Las 18 muestras restantes produjeron resultados de prueba válidos al repetir la prueba y se utilizaron en los cálculos de rendimiento clínico.

Tabla 4: Sensibilidad y especificidad del ensayo APTIMA GC en relación al estado de infección del paciente por estado de síntomas y en general para torunda uretral masculina, orina masculina, torunda endocervical femenina, orina femenina, torunda vaginal recogida por paciente asintomática y torunda vaginal recogida por el clínico

Muestra		**Estado de síntomas**	**N**	**PR**	**PF**	**NR**	**NF**	**Sensibilidad (IC 95%)**		**Especificidad (IC 95%)**	
Hombres	**Torunda**	Sintomático	575	171	10[a]	393	1	99,4	(96,8 - 100)	97,5	(95,5 - 98,8)
	Orina	Sintomático	576	171	4[b]	400	1	99,4	(96,8 - 100)	99,0	(97,5 - 99,7)
		Asintomático	745	9	5[c]	730	1	90,0	(55,5 - 99,7)	99,3	(98,4 - 99,8)
		Todos	1.321	180	9[d]	1.130	2	98,9	(96,1 - 99,9)	99,2	(98,5 - 99,6)
Mujeres	**Torunda**	Sintomático	805	52	8[e]	744	1	98,1	(89,9 - 100)	98,9	(97,9 - 99,5)
		Asintomático	635	20	5[f]	609	1	95,2	(76,2 - 99,9)	99,2	(98,1 - 99,7)
		Todos	1.440	72	13[g]	1.353	2	97,3	(90,6 - 99,7)	99,0	(98,4 - 99,5)
	Orina	Sintomático	810	48	2[h]	755	5	90,6	(79,3 - 96,9)	99,7	(99,0 - 100)
		Asintomático	639	21	1[i]	616	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,8	(99,1 - 100)
		Todos	1.449	69	3[j]	1.371	6	92,0	(83,4 - 97,0)	99,8	(99,4 - 100)
Recogidas por la paciente	**Torunda vaginal**	Asintomático	629	21	4[k]	604	0	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)
Recogidas por el clínico	**Torunda vaginal**	Sintomático	809	52	7[m]	749	1	98,1	(89,9 - 100)	99,1	(98,1 - 99,6)
		Asintomático	637	21	4[n]	611	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,3	(98,3 - 99,8)
		Todos	1.446	73	11[o]	1.360	2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)

PR = positivo real; **PF** = positivo falso; **NR** = negativo real; **NF** = negativo falso.

Resultados para GC del ensayo APTIMA COMBO 2: Nº de resultados positivos / Nº de muestras analizadas a: 2/10 b: 1/4 c: 1/5 d: 2/9 e: 5/8 f: 2/5 g: 7/13 h: 1/2 i: 1/1 j: 2/3 k: 3/4 l: 8/11 m: 6/7 n: 3/4 o: 9/11.

Estudio de muestras clínicas de Pap en medio líquido PreservCyt

Se realizó un estudio clínico multicéntrico prospectivo para evaluar el uso del medio de transporte PreservCyt (un componente del sistema ThinPrep 2000) como medio alternativo para muestras ginecológicas para la detección de *N. gonorrhoeae* por el ensayo APTIMA GC. En el estudio clínico se inscribieron y se evaluaron 1.647 mujeres sintomáticas y asintomáticas que asistían a clínicas de Obstetricia y Ginecología, de planificación familiar, de salud pública, de mujeres y de ETS. De estos sujetos, 1.288 eran asintomáticos y 359, sintomáticos (tabla 7e). Los sujetos inscritos procedían de centros con una prevalencia de GC del 0,0% al 5,0% (tabla 6a).

Se recogieron dos muestras de cada sujeto elegible: una muestra de Pap en medio líquido PreservCyt y una muestra de torunda endocervical. Las muestras de Pap en medio líquido PreservCyt se recogieron con la espátula/Cytobrush o con un dispositivo de obtención de muestras cervicales de cepillo tipo escobilla. La distribución de dispositivos de obtención de muestras cervicales se resume en la tabla 5 por centro de recogida de muestras y en general.

Las muestras de Pap en medio líquido PreservCyt se procesaron de acuerdo con el *ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual (Manual del usuario del procesador ThinPrep 2000*) y del prospecto del kit de transferencia de muestras APTIMA. Una vez procesada la muestra de Pap en medio líquido PreservCyt con el procesador ThinPrep 2000, la muestra se transfirió al kit de transferencia de muestras APTIMA para su análisis con el ensayo APTIMA GC.

La sensibilidad y la especificidad del ensayo APTIMA GC en muestras de Pap en medio líquido PreservCyt se calcularon comparando los resultados con el estado de infección de la paciente. El algoritmo incluyó los resultados del ensayo APTIMA COMBO 2 y del ensayo APTIMA GC en muestras de torunda endocervical. Ambas NAAT de referencia necesitaron ser positivas para establecer un estado de infección de la paciente. Por lo menos una NAAT de referencia necesitó ser negativa para establecer un estado de paciente no infectada. El único resultado equívoco que se obtuvo de una NAAT de referencia se consideró discordante con el ensayo de investigación a efectos del cálculo del rendimiento y, en consecuencia, el estado de infección de la paciente se estableció como no infectada (n=1). La tabla 7e resume la frecuencia de los resultados de la prueba para las muestras de torunda endocervical analizadas con el ensayo APTIMA COMBO 2 y el ensayo APTIMA GC.

La tabla 5a presenta las sensibilidades y especificidades para el ensayo APTIMA GC por estado de síntomas y en general. La sensibilidad general fue del 92,3% (12/13). En sujetos sintomáticos y asintomáticos, la sensibilidad fue del 100% (7/7) y del 83,3% (5/6), respectivamente. La especificidad general fue del 99,8% (1.630/1.634). En sujetos sintomáticos y asintomáticos, la especificidad fue del 99,4% (350/352) y del 99,8% (1.280/1.282), respectivamente.

La tabla 6a presenta las sensibilidades y especificidades para el ensayo APTIMA GC por centro de recogida de muestras y en general. Las sensibilidades abarcaron desde el 80,0% hasta el 100%. Las especificidades abarcaron desde el 99,0% hasta el 100%.

Tabla 5: Distribución de dispositivos de obtención de muestras cervicales utilizado para muestras de Pap en medio líquido PreservCyt

Dispositivo de obtención de muestras cervicales utilizado	Centro de recogida clínico						Total
	1	2	3	4	5	6	
Espátula/Cytobrush	0	124	475	287	57	364	1.307
Dispositivo tipo escobilla	100	0	0	0	240	0	340

Tabla 5a: Sensibilidad y especificidad del ensayo APTIMA GC en relación al estado de infección del paciente por estado de síntomas y en general para muestras de Pap en medio líquido PreservCyt

Síntoma	Resultado de la solución PreservCyt APTIMA GC	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilidad (%) (IC 95%)	Especificidad (%) (IC 95%)
Sintomático	Positivo	7	0	0	2	100 (7/7) (59,0 - 100)	99,4 (350/352) (98,0 - 99,9)
	Negativo	0	0	0	350		
	Total	7	0	0	352		
Asintomático	Positivo	5	0	1[1]	1	83,3 (5/6) (35,9 - 99,6)	99,8 (1.280/1.282) (99,4 - 100)
	Negativo	1	0	5	1.275		
	Total	6	0	6	1.276		
Todos	Positivo	12	0	1	3	92,3 (12/13) (64,0 - 99,8)	99,8 (1.630/1.634) (99,4 - 99,9)
	Negativo	1	0	5	1.625		
	Total	13	0	6	1.628		

+/+ = Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

+/- = Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado negativo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

-/+ = Resultado negativo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

-/- = Resultado negativo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado negativo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

[1]Una muestra tuvo un resultado discordante: Resultado equívoco en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

Tabla 6: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos del ensayo APTIMA GC en relación al estado de infección del paciente por centro clínico y en general para torunda uretral masculina, orina masculina, torunda endocervical femenina, orina femenina, torunda vaginal recogida por paciente asintomática y torunda vaginal recogida por el clínico

Muestra		Centro	N	PR	PF	NR	NF	Prev (%)	Sensibilidad (IC 95%)		Especificidad (IC 95%)		VPP (%)	VPN (%)
Hombres	Torunda	1	145	49	0	96	0	33,8	100	(92,7 - 100)	100	(96,2 - 100)	100	100
		2	177	66	8	102	1	37,9	98,5	(92,0 - 100)	92,7	(86,2 - 96,8)	89,2	99,0
		3	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C		N/C		N/C	N/C
		4	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C		N/C		N/C	N/C
		5	49	7	1	41	0	14,3	100	(59,0 - 100)	97,6	(87,4 - 99,9)	87,5	100
		6	150	37	1	112	0	24,7	100	(90,5 - 100)	99,1	(95,2 - 100)	97,4	100
		7	54	12	0	42	0	22,2	100	(73,5 - 100)	100	(91,6 - 100)	100	100
		8	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C		N/C		N/C	N/C
		Todos	575	171	10	393	1	29,9	99,4	(96,8 - 100)	97,5	(95,5 - 98,8)	94,5	99,7
	Orina	1	252	53	1	198	0	21,0	100	(93,3 - 100)	99,5	(97,2 - 100)	98,1	100
		2	353	68	3	280	2	19,8	97,1	(90,1 - 99,7)	98,9	(96,9 - 99,8)	95,8	99,3
		3	4	0	0	4	0	0,0	N/C		100	(39,8 - 100)	N/C	100
		4	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C		N/C		N/C	N/C
		5	200	8	3	189	0	4,0	100	(63,1 - 100)	98,4	(95,5 - 99,7)	72,7	100
		6	305	39	2	264	0	12,8	100	(91,0 - 100)	99,2	(97,3 - 99,9)	95,1	100
		7	207	12	0	195	0	5,8	100	(73,5 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		8	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C		N/C		N/C	N/C
		Todos	1.321	180	9	1.130	2	13,8	98,9	(96,1 - 99,9)	99,2	(98,5 - 99,6)	95,2	99,8

Tabla 6: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos del ensayo APTIMA GC en relación al estado de infección del paciente por centro clínico y en general para torunda uretral masculina, orina masculina, torunda endocervical femenina, orina femenina, torunda vaginal recogida por paciente asintomática y torunda vaginal recogida por el clínico (continuación)

Muestra		Centro	N	PR	PF	NR	NF	Prev (%)	Sensibilidad (IC 95%)		Especificidad (IC 95%)		VPP (%)	VPN (%)
Mujeres	Torunda	1	226	12	2	212	0	5,3	100	(73,5 - 100)	99,1	(96,7 - 99,9)	85,7	100
		2	197	29	3	164	1	15,2	96,7	(82,8 - 99,9)	98,2	(94,8 - 99,6)	90,6	99,4
		3	114	4	1	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	99,1	(95,0 - 100)	80,0	100
		4	260	5	1	254	0	1,9	100	(47,8 - 100)	99,6	(97,8 - 100)	83,3	100
		5	199	2	1	196	0	1,0	100	(15,8 - 100)	99,5	(97,2 - 100)	66,7	100
		6	294	19	5	269	1	6,8	95,0	(75,1 - 99,9)	98,2	(95,8 - 99,4)	79,2	99,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	N/C		100	(96,4 - 100)	N/C	100
		8	48	1	0	47	0	2,1	100	(2,5 - 100)	100	(92,5 - 100)	100	100
		Todos	1.440	72	13	1.353	2	5,1	97,3	(90,6 - 99,7)	99,0	(98,4 - 99,5)	84,7	99,9
	Orina	1	227	11	2	213	1	5,3	91,7	(61,5 - 99,8)	99,1	(96,7 - 99,9)	84,6	99,5
		2	198	30	0	167	1	15,7	96,8	(83,3 - 99,9)	100	(97,8 - 100)	100	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	100	(96,7 - 100)	100	100
		4	265	5	0	260	0	1,9	100	(47,8 - 100)	100	(98,6 - 100)	100	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		6	296	16	1	275	4	6,8	80,0	(56,3 - 94,3)	99,6	(98,0 - 100)	94,1	98,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	N/C		100	(96,4 - 100)	N/C	100
		8	49	1	0	48	0	2,0	100	(2,5 - 100)	100	(92,6 - 100)	100	100
		Todos	1.449	69	3	1.371	6	5,2	92,0	(83,4 - 97,0)	99,8	(99,4 - 100)	95,8	99,6
Recogidas por la paciente	Torunda vaginal (asinto-mática)	1	70	5	1	64	0	7,1	100	(47,8 - 100)	98,5	(91,7 - 100)	83,3	100
		2	46	7	1	38	0	15,2	100	(59,0 - 100)	97,4	(86,5 - 99,9)	87,5	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100	(15,8 - 100)	100	(91,8 - 100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100	(2,5 - 100)	100	(97,6 - 100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100	(2,5 - 100)	100	(97,2 - 100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100	(47,8 - 100)	97,1	(90,1 - 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	N/C		100	(94,7 - 100)	N/C	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	N/C		100	(91,8 - 100)	N/C	100
		Todos	629	21	4	604	0	3,3	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)	84,0	100
Recogidas por el clínico	Torunda vaginal	1	227	12	2	213	0	5,3	100	(73,5 - 100)	99,1	(96,7 - 99,9)	85,7	100
		2	197	30	3	163	1	15,7	96,8	(83,3 - 99,9)	98,2	(94,8 - 99,6)	90,9	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	100	(96,7 - 100)	100	100
		4	263	5	3	255	0	1,9	100	(47,8 - 100)	98,8	(96,6 - 99,8)	62,5	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		6	295	19	3	272	1	6,8	95,0	(75,1 - 99,9)	98,9	(96,8 - 99,8)	86,4	99,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	N/C		100	(96,4 - 100)	N/C	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100	(2,5 - 100)	100	(92,7 - 100)	100	100
		Todos	1.446	73	11	1.360	2	5,2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)	86,9	99,9

PR = positivo real; **PF** = positivo falso; **NR** = negativo real; **NF** = negativo falso.

Tabla 6a: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos del ensayo APTIMA GC en relación al estado de infección del paciente por centro clínico y en general para muestras de Pap en medio líquido PreservCyt

Centro	Resultado de la solución PreservCyt APTIMA GC	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Sensibilidad (%) (IC 95%)	Especificidad (%) (IC 95%)	VPP (%)	VPN (%)
1	Positivo	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8 - 100)	100 (95/95) (96,2 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	95					
	Total	5	0	0	95					
2	Positivo	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5 - 100)	100 (123/123) (97,0 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	123					
	Total	1	0	0	123					
3	Positivo	4	0	0	0	1,1	80,0 (4/5) (28,4 - 99,5)	100 (470/470) (99,2 - 100)	100	99,8
	Negativo	1	0	0	470					
	Total	5	0	0	470					
4	Positivo	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5 - 100)	99,0 (283/286) (97,0 - 99,8)	25,0	100
	Negativo	0	0	3	280					
	Total	1	0	3	283					
5	Positivo	0	0	0	0	0,0	N/C	100 (297/297) (98,8 - 100)	N/C	100
	Negativo	0	0	0	297					
	Total	0	0	0	297					
6	Positivo	1	0	1[1]	0	0,3	100 (1/1) (2,5 - 100)	99,7 (362/363) (98,5 - 100)	50,0	100
	Negativo	0	0	2	360					
	Total	1	0	3	360					
TODOS	Positivo	12	0	1	3	0,8	92,3 (12/13) (64,0 - 99,8)	99,8 (1.630/1.634) (99,4 - 99,9)	75,0	99,9
	Negativo	1	0	5	1.625					
	Total	13	0	6	1.628					

N/C = no corresponde.

+/+ = Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

+/- = Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado negativo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

-/+ = Resultado negativo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

-/- = Resultado negativo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado negativo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

[1]Una muestra tuvo un resultado discordante: Resultado equívoco en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA COMBO 2/Resultado positivo en muestra de torunda endocervical en el ensayo APTIMA GC.

Tabla 7a: Resultados de torundas uretrales masculinas de pacientes sintomáticos de sujetos infectados o no infectados con N. gonorrhoeae de acuerdo con el estado de infección del paciente

Estado de infección del paciente	NAAT 1 (Ensayo APTIMA COMBO 2)		NAAT 2		Ensayo APTIMA GC	Total
	TM	OM	TM	OM	TM	
Infectado	+	+	+	+	+	164
Infectado	+	+	+	+	-	1
Infectado	+	+	+	-	+	3
Infectado	+	+	=	+	+	1
Infectado	+	-	+	+	+	2
Infectado	+	-	+	-	+	1
No infectado	+	-	-	-	+	2
No infectado	+	-	-	-	-	1
No infectado	-	+	-	-	+	1
No infectado	-	-	+	-	-	1
No infectado	-	-	-	+	-	2
No infectado	-	-	-	-	+	3
No infectado	-	-	-	-	+	2
No infectado	-	-	-	-	-	386
No infectado	-	-	-	-	=	1
No infectado	-	-	-	N/C	-	1
No infectado	-	-	-	=	-	1
No infectado	-	-	=	-	-	1
No infectado	=	-	-	-	+	2
Total						**576**

N/C = Muestra no obtenida o no disponible para su análisis. El signo de igualdad (**=**) representa un resultado equívoco o indeterminado en la repetición de la prueba. **TM** = torunda uretral masculina de paciente sintomático; **OM** = orina masculina.

Tabla 7b: Resultados de muestras de orina masculina de sujetos infectados o no infectados con N. gonorrhoeae según el estado de infección del paciente

Estado de infección del paciente	NAAT 1 (Ensayo APTIMA COMBO 2)		NAAT 2		Ensayo APTIMA GC	Estado de síntomas		Total
	TM	OM	TM	OM	OM	Sint.	Asint.	
Infectado	+	+	+	+	+	164	8	172
Infectado	+	+	+	+	+	1	0	1
Infectado	+	+	+	-	+	3	1	4
Infectado	+	+	=	+	+	1	0	1
Infectado	+	-	+	+	+	2	0	2
Infectado	+	-	+	-	-	1	1	2
No infectado	+	+	-	-	+	0	1	1
No infectado	+	-	-	-	-	2	13	15
No infectado	+	-	-	-	-	1	0	1
No infectado	-	+	-	-	+	1	0	1
No infectado	-	+	-	-	-	0	1	1
No infectado	-	-	+	-	-	1	1	2
No infectado	-	-	-	+	-	2	2	4
No infectado	-	-	-	-	+	3	1	4
No infectado	-	-	-	-	-	2	1	3
No infectado	-	-	-	-	+	0	3	3
No infectado	-	-	-	-	-	386	691	1.077
No infectado	-	-	-	-	-	1	2	3
No infectado	-	-	-	N/C	-	1	4	5
No infectado	-	-	-	=	-	1	4	5
No infectado	-	-	=	-	-	1	1	2
No infectado	-	=	-	-	-	0	1	1
No infectado	N/C	-	-	-	-	0	1	1
No infectado	=	-	-	-	-	2	6	8
No infectado	=	-	-	-	-	0	2	2
Total						**576**	**745**	**1.321**

Sint. = sintomático; **Asint**. = asintomático. **N/C** = muestra no obtenida o no disponible para análisis. El signo de igualdad (**=**) representa un resultado equívoco o indeterminado en la repetición de la prueba. **TM** = torunda uretral masculina; **OM** = orina masculina.

Tabla 7c: Resultados de torundas endocervicales y orina femenina de mujeres infectadas o no infectadas con N. gonorrhoeae según el estado de infección de la paciente

Estado de infección del paciente	**NAAT 1 (Ensayo APTIMA COMBO 2)**		**NAAT 2**		**Ensayo APTIMA GC**		**Estado de síntomas**		**Total**
	TF	**OF**	**TF**	**OF**	**TF**	**OF**	**Sint.**	**Asint.**	
Infectado	+	+	+	+	+	+	43	16	59
Infectado	+	+	+	+	+	-	2	0	2
Infectado	+	+	+	-	+	+	2	1	3
Infectado	+	+	+	-	+	-	0	1	1
Infectado	+	+	+	N/C	+	+	1	0	1
Infectado	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infectado	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infectado	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infectado	+	-	+	-	+	+	0	1	1
Infectado	+	-	+	-	+	-	2	0	2
Infectado	-	+	+	+	-	+	1	0	1
Infectado	-	+	-	+	-	+	0	1	1
Infectado	-	+	-	+	=	+	0	1	1
Infectado	-	-	+	+	-	-	1	0	1
No infectado	+	-	-	-	+	-	4	1	5
No infectado	+	-	-	-	-	-	1	0	1
No infectado	-	+	-	-	-	-	1	0	1
No infectado	-	-	+	-	+	-	1	0	1
No infectado	-	-	+	-	-	-	5	2	7
No infectado	-	-	-	+	-	-	2	2	4
No infectado	-	-	-	-	+	-	1	2	3
No infectado	-	-	-	-	-	+	1	0	1
No infectado	-	-	-	-	-	-	718	589	1.307
No infectado	-	-	-	-	=	-	1	0	1
No infectado	-	-	-	N/C	-	-	2	3	5
No infectado	-	-	-	=	-	-	11	11	22
No infectado	-	-	=	-	-	-	1	1	2
No infectado	-	N/C	-	-	-	N/C	1	1	2
No infectado	N/C	-	-	-	N/C	-	5	4	9
No infectado	=	-	-	-	+	-	1	1	2
Total							**811**	**640**	**1.451**

Sint. = sintomático; **Asint**. = asintomático. **N/C** = muestra no obtenida o no disponible para análisis. El signo de igualdad (**=**) representa un resultado equívoco o indeterminado en la repetición de la prueba. **TF** = torunda endocervical femenina; **OF** = orina femenina.

Tabla 7d: Resultados de torundas vaginales de mujeres infectadas o no infectadas con N. gonorrhoeae de acuerdo con el estado de infección de la paciente

Estado de infección del paciente	NAAT 1 (Ensayo APTIMA COMBO 2)		NAAT 2		Ensayo APTIMA GC		Estado de síntomas		Total
	TF	OF	TF	OF	TVP	TVC	Sint.	Asint.	
Infectado	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Infectado	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infectado	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Infectado	+	+	+	+	N/C	+	0	1	1
Infectado	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Infectado	+	+	+	N/C	+	+	1	0	1
Infectado	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infectado	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infectado	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Infectado	+	-	+	-	+	+	2	1	3
Infectado	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infectado	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infectado	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infectado	-	-	+	+	-	-	1	0	1
No infectado	+	-	-	-	-	-	5	1	6
No infectado	-	+	-	-	-	-	1	0	1
No infectado	-	-	+	-	+	+	1	0	1
No infectado	-	-	+	-	-	-	5	2	7
No infectado	-	-	-	+	+	+	0	1	1
No infectado	-	-	-	+	-	-	2	1	3
No infectado	-	-	-	-	+	+	2	1	3
No infectado	-	-	-	-	+	-	3	1	4
No infectado	-	-	-	-	-	+	3	1	4
No infectado	-	-	-	-	-	-	696	577	1.273
No infectado	-	-	-	-	-	N/C	0	1	1
No infectado	-	-	-	-	-	=	0	1	1
No infectado	-	-	-	-	N/C	-	16	9	25
No infectado	-	-	-	-	N/C	N/C	1	0	1
No infectado	-	-	-	N/C	-	-	2	2	4
No infectado	-	-	-	N/C	N/C	-	0	1	1
No infectado	-	-	-	=	-	-	11	10	21
No infectado	-	-	-	=	-	N/C	0	1	1
No infectado	-	-	=	-	-	-	1	1	2
No infectado	-	N/C	-	-	-	-	0	1	1
No infectado	-	N/C	-	-	N/C	N/C	1	0	1
No infectado	N/C	-	-	-	-	-	5	4	9
No infectado	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Total							**811**	**640**	**1.451**

Sint. = sintomático; Asint. = asintomático. N/C = muestra no obtenida o no disponible para análisis. El signo de igualdad (**=**) representa un resultado equívoco o indeterminado en la repetición de la prueba. **TF** = torunda endocervical femenina; **OF** = orina femenina; **TVP** = torunda vaginal recogida por la paciente; **TVC** = torunda vaginal recogida por el clínico.

Tabla 7e: Resultados del estado de infección del paciente en el estudio clínico de muestras de Pap en medio líquido PreservCyt para N. gonorrhoeae

Estado de infección del paciente	Torunda endocervical		Estado de síntomas	
	Ensayo APTIMA COMBO 2	Ensayo APTIMA GC	Sintomático	Asintomático
Infectado	Positivo	Positivo	7	6
No infectado	Negativo	Negativo	352	1.276
No infectado	Negativo	Positivo	0	5
No infectado	Equívoco	Positivo	0	1
Total			**359**	**1.288**

Distribución RLU de controles APTIMA

La distribución de las RLU para el Control positivo, GC / Control negativo, CT de APTIMA y para el Control positivo, CT / Control negativo, GC de APTIMA de todos los ciclos del ensayo APTIMA GC realizados durante los estudios de muestras clínicas se presenta en la tabla 8.

Tabla 8: Distribución de las RLU de los controles APTIMA durante los estudios de muestras clínicas, incluidos estudios de muestras de torunda endocervical, vaginal y uretral masculina, muestras de orina masculina y femenina, y Pap en medio líquido PreservCyt

Control	Estadísticas	RLU (x1.000)	
		Estudio clínico de muestras de torunda y de orina	Estudio clínico de muestras de Pap en medio líquido PreservCyt
Control positivo, GC / Control negativo, CT	N	193	218
	Media	5.048	4.561
	SD	1.071	1.295
	Máximo	6.765	6.791
	75º percentil	5.763	5.450
	Mediana	5.175	4.859
	25º percentil	4.645	3.804
	Mínimo	229	158
Control positivo, CT / Control negativo, GC	N	193	218
	Media	2,15	2,60
	SD	2,20	2,80
	Máximo	20	29
	75º percentil	2	3
	Mediana	2	2
	25º percentil	1	2
	Mínimo	0	1

Estudio de precisión

La precisión del ensayo APTIMA GC (esto es, su reproducibilidad) se evaluó en dos centros clínicos externos y en Gen-Probe. La precisión del ensayo APTIMA GC se evaluó con tres lotes de kit de ensayo APTIMA GC, tres centros de estudio, seis usuarios y 108 ciclos del ensayo APTIMA GC. Dos usuarios en cada uno de los tres centros de análisis realizaron un total de seis ciclos de ensayo APTIMA GC por lote de kit sumando un total de 36 ciclos por lote de kit. Cada ciclo estaba formado por un panel de precisión de 12 muestras con un contenido de 0 a 2.433 fg/ensayo de rRNA de GC. La reproducibilidad se estableció usando

medio de transporte de torunda enriquecido con rRNA. No se ha determinado la reproducibilidad en el análisis de muestras de torunda y de orina que contenían el organismo seleccionado. La tabla 9 presenta los datos RLU de precisión en términos de media, desviación estándar, coeficiente de variación (CV) y porcentaje de concordancia con los resultados esperados para cálculos de variabilidad entre-centro, entre-usuario, entre-lote, entre-ciclo y dentro-ciclo.

Tabla 9: Datos de precisión del ensayo APTIMA GC utilizando un panel de precisión de 12 muestras con contenido de 0 a 2.433 fg/ensayo de rRNA de GC.

Concentración	N	RLU media (x1.000)	% concor-dancia	Dentro-ciclo		Entre-centro		Entre-lote		Entre-usuario		Entre-ciclo	
				SD RLU (x1.000)	% CV	SD RLU (x1.000)	% CV	SD RLU (x1.000)	% CV	SD RLU (x1.000)	% CV	SD RLU (x1.000)	% CV
Neg (0 fg/mL)	540	11,7	99,8	233,3	N/C	0	N/C	0	N/C	4,3	N/C	0	N/C
Baja (608 - 625 fg/mL)	324	5.574,4	99,7	617,2	11,1	189,2	3,4	518,1	9,3	311,3	5,6	527,4	9,5
Medio (6.082 fg/mL)	108	6.502,6	100	138,8	2,1	0	0,0	481,9	7,4	514,8	7,9	579,4	8,9
Alta (12.500 fg/mL)	324	6.786,0	100	270,3	4,0	0	0,0	581,3	8,6	410,7	6,1	647,1	9,5

SD = desviación estándar; **CV(%)** = porcentaje del coeficiente de variación;**% concord.** = porcentaje de concordancia.
N/C = no corresponde para el analito negativo.
Nota: La variabilidad de algunos factores podría ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto sucede, la variabilidad medida en función de la SD y el %CV se establece en cero (12).

La precisión en-laboratorio de muestras de Pap en medio líquido PreservCyt con el ensayo APTIMA GC se determinó añadiendo a los viales de PreservCyt 20 GC CFU por vial (0,1 CFU por reacción) y 100 GC CFU por vial (0,5 CFU por reacción). Como controles positivos y negativos se analizaron viales con un contenido de 10.000 GC CFU por vial (50 CFU por reacción) y viales de PreservCyt no enriquecidos. Se dividieron diez viales enriquecidos a cada nivel CFU y diez viales no enriquecidos entre dos usuarios. Los usuarios agitaron con mezclador vórtex los viales y luego transfirieron 14 alícuotas (de 1,0 mL cada una) por vial a 14 tubos de transferencia APTIMA, según las instrucciones del prospecto del kit de transferencia de muestras APTIMA. Los usuarios desconocían las titulaciones de las muestras (muestras ciegas). Cada una de las muestras Pap-STM resultantes se analizó una vez en el ensayo APTIMA GC. Se realizaron un total de cinco ciclos en un período de cinco días para 140 resultados a una concentración de 0,1, 0,5 y 50 CFU. Hubo 136 resultados válidos y 4 no válidos para el panel de controles negativos. Los resultados no válidos se debieron a la colocación incorrecta de una TTU en el Leader HC+. Los resultados se resumen en la tabla 10.

Tabla 10: Datos de precisión en-laboratorio del ensayo APTIMA GC para PreservCyt utilizando un panel de precisión de 4 muestras con contenido de 0 a 500 CFU/mL de células GC

Muestra del panel	CFU/mL PreservCyt	CFU/ rxn	N	Con-cuerda	% concor-dancia	RLU media (x1.000)	Dentro-usuario		Entre-día		Entre-usuario		Total	
							SD (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV
A	1	0,1	140	39	27,9	313,7	758,3	241,7	132,5	42,2	0,0	0,0	769,8	245,4
B	5	0,5	140	113	80,7	1.211,1	1.031,3	85,2	169,8	14,0	150,4	12,4	1.056,0	87,2
C	500	50	140	140	100	5.636,8	220,7	3,9	135,7	2,4	0,0	0,0	259,1	4,6
D	0	0	136*	136	100	1,2	0,5	N/C	0	N/C	0,3	N/C	0,6	N/C

* Hubo cuatro resultados no válidos debido a una TTU mal colocada en el Leader HC+.
Nota: La variabilidad de algunos factores podría ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es pequeña. Cuando esto sucede, la variabilidad medida en función de la SD y el %CV se establece en cero (12). N/C = no corresponde para muestras de paneles negativos. Usuario = Ciclo. Las muestras con resultados discordantes se incluyeron en el análisis de variabilidad de la señal.

Rendimiento analítico de los sistemas DTS

Consulte el rendimiento analítico específico del TIGRIS DTS System en el apartado *Rendimiento analítico del TIGRIS DTS System* a continuación del apartado *Concordancia de las muestras clínicas del TIGRIS DTS System*.

Consulte el rendimiento analítico específico del sistema PANTHER en el apartado *Rendimiento analítico del TIGRIS DTS System*.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección) de *N. gonorrhoeae* se determinó comparando directamente diluciones de 51 aislados clínicos diferentes en cultivo y en el ensayo APTIMA GC. La sensibilidad analítica declarada para el ensayo es de 50 CFU/ensayo (362 CFU/torunda, 250 CFU/mL de orina, 487,5 CFU/mL de Pap en medio líquido PreservCyt).

Especificidad analítica

Se evaluaron un total de 154 aislados de cultivo utilizando el ensayo APTIMA GC. Estos aislados incluían 86 organismos que pueden aislarse del tracto genitourinario y 68 organismos adicionales que representan un corte transversal filogenético de organismos. Los organismos analizados incluían bacterias, hongos, levadura, parásitos y virus. Todos los organismos excepto *C. psittaci, C. pneumoniae, U. urealyticum* y los virus se analizaron a 1,0 x 10^6 células/ensayo en medios de transporte de orina KOVA-Trol y 60 organismos se analizaron en medios de transporte de torunda. Los organismos Chlamydia y Neisseria se analizaron en el medio PreservCyt. *C. psittaci* VR601 se analizó a 8,0 x 10^4 células/ensayo y *C. psittaci* VR125 se analizó a 1,0 x 10^5 células/ensayo. *C. pneumoniae* se analizó a 4,0 x 10^3 células/ensayo y *U. urealyticum* se analizó a 6,7 x 10^6 células/ensayo. Los virus se analizaron como sigue: (a) virus herpes simple I: 2,5 x 10^4 $TCID_{50}$/ensayo, (b) virus herpes simple II: 6,0 x 10^4 $TCID_{50}$/ensayo, (c) papipomavirus humano 16: 2,9 x 10^6 copias de DNA/ensayo y (d) citomegalovirus: 4,8 x 10^5 células/ensayo. La lista de organismos analizados se muestra en la tabla 11.

Tabla 11: Especificidad analítica

Organismo	Organismo	Organismo
Achromobacter xerosis	*Escherichia coli*	*Neisseria mucosa (3)*
Acinetobacter calcoaceticus	*Flavobacterium meningosepticum*	*Neisseria sicca (3)*
Acinetobacter lwoffi	*Fusobacterium nucleatum*	*Neisseria subflava (14)*
Actinomyces israelii	*Gardnerella vaginalis*	*Neisseria perflava*
Actinomyces pyogenes	*Gemella haemolysans*	*Neisseria polysaccharea*
Aerococcus viridans	*Haemophilus ducreyi*	*Paracoccus denitrificans*
Aeromonas hydrophila	*Haemophilus influenzae*	*Peptostreptococcus anaerobius*
Agrobacterium radiobacter	Virus herpes simple I	*Peptostreptococcus productus*
Alcaligenes faecalis	Virus herpes simple II	*Plesiomonas shigelloides*
Bacillus subtilis	Virus del papiloma humano 16	*Propionibacterium acnes*
Bacteriodes fragilis	*Kingella dentrificans*	*Proteus mirabilis*
Bacteriodes ureolyticus	Kingella kingae	*Proteus vulgaris*
Bifidobacterium adolescentis	*Klebsiella oxytoca*	*Providencia stuartii*
Bifidobacterium brevi	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*
Branhamella catarrhalis	*Lactobacillus acidophilus*	*Pseudomonas fluorescens*
Brevibacterium linens	*Lactobacillus brevis*	*Pseudomonas putida*
Campylobacter jejuni	*Lactobacillus jensonii*	*Rahnella aquatilis*
Candida albicans	*Lactobacillus lactis*	*Rhodospirillum rubrum*
Candida glabrata	*Legionella pneumophila (2)*	*Saccharomyces cerevisiae*
Candida parapsilosis	*Leuconostoc paramensenteroides*	*Salmonella minnesota*
Candida tropicalis	*Listeria monocytogenes*	*Salmonella typhimurium*
Chlamydia pneumoniae	*Micrococcus luteus*	*Serratia marcescens*
Chlamydia psittaci (2)	*Moraxella lacunata*	*Staphylococcus saprophyticus*
Chromobacterium violaceum	*Moraxella osloensis*	*Staphylococcus aureus*
Citrobacter freundii	*Morganella morganii*	*Staphylococcus epidermidis*
Clostridium perfringens	*Mycobacterium smegmatis*	*Streptococcus agalactiae*
Corynebacterium genitalium	*Mycoplasma genitalium*	*Streptococcus bovis*
Corynebacterium xerosis	*Mycoplasma hominis*	*Streptococcus mitis*
Cryptococcus neoformans	*N. meningitidis, serogrupo A*	*Streptococcus mutans*
Citomegalovirus	*N. meningitidis, serogrupo B*	*Streptococcus pneumoniae*
Deinococcus radiodurans	*N. meningitidis, serogrupo C (4)*	*Streptococcus pyogenes*
Derxia gummosa	*N. meningitidis, serogrupo D*	*Streptococcus salivarius*
Eikenella corrodens	*N. meningitidis, serogrupo Y*	*Streptococcus sanguis*
Enterobacter aerogenes	*N. meningitidis, serogrupo W135*	*Streptomyces griseinus*
Enterobacter cloacae	*Neisseria cinerea (4)*	*Trichomonas vaginalis*
Entercoccus avium	*Neisseria dentrificans*	*Ureaplasma urealyticum*
Entercoccus faecalis	*Neisseria elongata (3)*	*Vibrio parahaemolyticus*
Entercoccus faecium	*Neisseria flava*	*Yersinia enterocolitica*
Erwinia herbicola	*Neisseria flavescens (2)*	
Erysipelothrix rhusiopathiae	*Neisseria lactamica (9)*	

(n) = número de cepas analizadas.

Todos los organismos analizados dieron un resultado negativo en el ensayo APTIMA GC.

Substancias interferentes

Las siguientes sustancias interferentes se añadieron individualmente a muestras de torunda, Pap en medio líquido PreservCyt y orina: 10% de sangre, gel anticonceptivo, espermicida, humectante, anestésico hemorroidal, aceite corporal, polvo, crema antifúngica, lubricantes vaginales, duchas femeninas y leucocitos (1,0 x 10^6 células/mL). Las siguientes sustancias interferentes se añadieron individualmente a muestras de orina: 30% de sangre, analitos de orina, proteína, glucosa, cetonas, bilirrubina, nitrato, urobilinógeno, pH 4 (ácido), pH 9 (alcalino), leucocitos (1,0 x 10^6 células/mL), restos celulares, vitaminas, minerales, acetaminofén, aspirina e ibuprofeno. Todos se analizaron para determinar la interferencia potencial del ensayo en ausencia y presencia de GC al equivalente de rRNA estimado de 50 células GC/ensayo (250 fg/ensayo). Los equivalentes rRNA se calcularon en función del tamaño del genoma y de la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo.

No se observó ninguna interferencia con ninguna de las sustancias analizadas. No se observó ningún inhibidor de amplificación en el ensayo APTIMA GC.

Recuperación

Se añadieron *Escherichia coli, Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus* y *Staphylococcus epidermidis* (1,0 x 10^8 células/ensayo) a muestras que contenían el equivalente de rRNA de aproximadamente 50 células de GC (250 fg). Estas adiciones no interfirieron con la amplificación y detección de GC rRNA utilizando el ensayo APTIMA GC.

Estudios de la estabilidad de las muestras

A. Muestras de torunda y de orina

Los datos que apoyan las condiciones de envío y almacenamiento recomendadas para las muestras de torunda endocervical, uretral y vaginal se generaron con una mezcla de muestras de torunda negativas. Las muestras mezcladas se enriquecieron con GC a una concentración final de aproximadamente 50 CFU por reacción. Las muestras enriquecidas se mantuvieron a -70 °C, -20 °C, 4 °C y 30 °C. Las muestras se analizaron por duplicado los días 0, 20, 77 y 117. Todas las condiciones de la prueba dieron positivo para GC en todas las ocasiones y temperaturas.

Los datos que apoyan las condiciones de envío y almacenamiento recomendadas para las muestras de orina se generaron con muestras de orina, masculinas y femeninas, negativas. Las muestras de orina se enriquecieron con GC a la concentración final de 100 CFU por reacción. Las muestras se conservaron a 30 °C durante 24 horas antes de añadirlas a los medios de transporte de orina (urine transport media, UTM). Las muestras UTM se mantuvieron a continuación a 4 °C y 30 °C, y se analizaron por triplicado los días 1, 14, 32 y 35. Las muestras UTM también se almacenaron a -20 °C y -70 °C, y se analizaron por triplicado los días 1, 35 y 109. Todas las réplicas fueron positivas para GC con las muestras UTM conservadas a 4 °C y -70 °C. Cuando las muestras UTM se mantuvieron a -30 °C, el 94% de las réplicas dio positivo para GC el día 35. Cuando las muestras UTM se mantuvieron a -20 °C, el 98% de las réplicas dio positivo para GC el día 109.

B. Muestras de Pap en medio líquido PreservCyt

Los datos que apoyan las condiciones de envío y almacenamiento recomendadas para las muestras de Pap en medio líquido PreservCyt se generaron con muestras de Pap en medio líquido, procesadas y sin procesar, negativas. Para las muestras no procesadas, se analizaron cuatro mezclas de muestras en solución PreservCyt después de haber

estado almacenadas en el vial con la solución Cytyc PreservCyt. Cada mezcla de muestras se enriqueció con 50 - 100 CFU GC/ensayo, se conservó a 2 °C, 10 °C y 30 °C, y luego se analizó al inicio del ensayo y en los días 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 y 36. Todas las muestras enriquecidas fueron positivas para GC en todas las ocasiones y temperaturas.

Para las muestras procesadas, se utilizaron cuatro mezclas de muestras en solución PreservCyt para determinar la estabilidad de las muestras procesadas a una temperatura entre 2 °C y 30 °C. Cada mezcla de muestras negativas se enriqueció con 50 - 100 CFU GC/ensayo, y luego se analizó al inicio del ensayo. Antes del procesamiento, las muestras en solución PreservCyt se almacenaron a 30 °C durante siete (7) días para simular el lapso de tiempo entre la recogida de las muestras, el procesamiento de Pap y el envío a un laboratorio de análisis microbiológicos. Después de siete días a 30 °C, se transfirieron alícuotas de 1 mL de cada mezcla a un tubo de transferencia de muestras APTIMA y se analizaron al inicio del ensayo, antes de colocarse a 2 °C, 10 °C y 30 °C. Las muestras procesadas se analizaron entonces durante 17 días almacenadas a 30 °C y durante 36 días almacenadas a una temperatura entre 2 °C y 10 °C. Todas las muestras enriquecidas fueron positivas para GC en todas las ocasiones y temperaturas.

Los datos que apoyan condiciones de almacenamiento más prolongadas se generaron de cuatro mezclas de muestras en solución PreservCyt procesadas negativas, analizadas a temperaturas por debajo del punto de congelación. Cada mezcla se enriqueció con 50 - 100 CFU GC/ensayo, y luego se analizó al inicio del ensayo. Cada mezcla se colocó primero a 30 °C durante 14 días y luego se almacenó a -20 °C o -70 °C a lo largo de 106 días. Todas las muestras enriquecidas fueron positivas para GC en todas las ocasiones y temperaturas.

C. Estudio de la estabilidad de las muestras con congelación adicional (a -20 °C)

Los datos que apoyan las condiciones de almacenamiento recomendadas a una temperatura de -20 °C para las muestras de torunda endocervical, torunda uretral, torunda vaginal, orina femenina, orina masculina y Pap en medio líquido PreservCyt se generaron con 90 muestras de cada tipo con resultado negativo, donde 30 muestras fueron enriquecidas con GC a 50 CFU por reacción; 30 muestras fueron enriquecidas a 5 CFU por reacción; y 30 muestras no fueron enriquecidas. Las muestras se almacenaron a -20 °C y se analizaron en los días 0, 200 y 400. Todas las muestras enriquecidas cumplieron los criterios de validación con una concordancia del 95% con los resultados esperados.

Concordancia de las muestras clínicas del TIGRIS DTS System

Concordancia del TIGRIS DTS System

La concordancia entre los resultados del ensayo APTIMA GC generados en el TIGRIS DTS System totalmente automatizado y en los sistemas DTS semi-automatizados se evaluó realizando pruebas en muestras de torunda endocervical, torunda uretral masculina, orina femenina y masculina, torunda vaginal y Pap en medio líquido PreservCyt. Cada una de las muestras clínicas se analizó individualmente con el ensayo APTIMA GC en los dos tipos de sistema, el TIGRIS DTS System y los sistemas DTS, en Gen-Probe. El orden de la prueba no se aleatorizó. Las muestras identificadas para inclusión se analizaron en el TIGRIS DTS System primero y después en los sistemas DTS.

Estudio de concordancia de las muestras clínicas — muestras de torunda endocervical, torunda uretral masculina, orina masculina y femenina, torunda vaginal y Pap en medio líquido PreservCyt

Hombres y mujeres que asistían a clínicas de ETS, planificación familiar y de Obstetricia y Ginecología de ocho centros en diferentes localidades geográficas con baja a alta prevalencia para GC contribuyeron muestras de torunda endocervical, torunda uretral masculina, orina masculina y femenina, torunda vaginal y Pap en medio líquido PreservCyt. Las muestras se transfirieron directamente a Gen-Probe para su análisis. En Gen-Probe, las muestras de torunda endocervical, torunda uretral masculina, y orina femenina y masculina se analizaron primero con el ensayo APTIMA COMBO 2 en el TIGRIS DTS System. Las muestras de torunda vaginal y de Pap en medio líquido PreservCyt se cribaron con el ensayo APTIMA COMBO 2 en los sistemas DTS. Las muestras con resultados finales no válidos o equívocos no se seleccionaron para el estudio de concordancia de las muestras clínicas APTIMA GC.

Se seleccionaron 129 torundas femeninas (70 endocervicales y 59 vaginales), 133 muestras de torunda uretral masculina, 72 de orina femenina, 130 de orina masculina y 51 de Pap en medio líquido PreservCyt con resultados positivos y negativos para GC en el ensayo APTIMA COMBO 2 para análisis comparativo entre el TIGRIS DTS System y los sistemas DTS para el ensayo APTIMA GC. La mayoría de las muestras (88 torundas femeninas, 93 torundas masculinas, 47 de orina femenina, 70 de orina masculina, y 34 de Pap en medio líquido PreservCyt) incluidas para análisis comparativo procedían de individuos sintomáticos. Las muestras con resultados iniciales no válidos o equívocos volvieron a analizarse utilizando el mismo sistema en el que se generó el resultado. Tres muestras de orina femenina, 1 de torunda vaginal y 1 de torunda uretral masculina tuvieron resultados iniciales equívocos en los sistemas DTS; tras la repetición de la prueba, todos tuvieron resultados válidos. Una muestra de orina masculina y una femenina tuvieron resultados iniciales no válidos en el TIGRIS DTS System; tras volverse a analizar, los resultados de las dos fueron válidos.

La tabla 12 presenta las concordancias positivas, negativas y generales de todos los resultados emparejados para cada tipo de muestra por estado sintomático. Las muestras de torundas femeninas (torundas endocervicales y vaginales combinadas) están desequilibradas en relación con las muestras positivas y negativas de pacientes sintomáticas, pero la concordancia general para las pacientes sintomáticas fue del 100%, para las asintomáticas fue del 97,6% (40/41), y para «todas» (sintomáticas y asintomáticas combinadas) fue del 99,2% (128/129). Para muestras de torunda uretral masculina, la concordancia general para sujetos sintomáticos y asintomáticos, y para «todos» los sujetos fue del 100%. Para muestras de orina femenina, la concordancia general para pacientes sintomáticas fue del 100%, para pacientes asintomáticas fue del 96,0% (24/25), y para «todas» fue del 98,6% (71/72).

Para muestras de orina masculina, la concordancia general para pacientes sintomáticos fue del 98,6% (69/70), para pacientes asintomáticos fue del 100% y para «todos» fue del 99,2% (129/130). Para muestras de Pap en medio líquido PreservCyt, la concordancia general para sujetos sintomáticos y asintomáticos, y para «todos» los sujetos fue del 100%. Debido al número relativamente más pequeño de muestras procedentes de sujetos asintomáticos, es posible que estos hallazgos no puedan generalizarse a las pruebas APTIMA GC del TIGRIS DTS System con muestras de sujetos asintomáticos.

Consulte la tabla 4 para los cálculos estimados del rendimiento del ensayo APTIMA GC para muestras de torunda endocervical, vaginal y uretral masculina, y de orina masculina y femenina, y la tabla 5a para muestras de Pap en medio líquido PreservCyt analizadas en los sistemas DTS. Las estimaciones de rendimiento clínico para el TIGRIS DTS System con muestras de torunda endocervical, torunda vaginal, de torunda uretral masculina, de orina masculina y femenina, y de Pap en medio líquido PreservCyt serán similares dados los resultados de la concordancia.

Tabla 12: Estudio de concordancia de las muestras clínicas: concordancias positivas, negativas y generales por estado de síntomas

Síntoma	Muestra	Sexo	N	DTS+ TIGRIS+	DTS+ TIGRIS-	DTS- TIGRIS+	DTS- TIGRIS-	% de concordancia positiva (IC 95%)	% de concordancia negativa (IC 95%)	% concordancia general (IC 95%)
Sint.	Torunda	Mujeres*	88	55	0	0	33	100 (93,5 - 100)	100 (89,4 - 100)	100 (95,9 - 100)
		Hombres	93	66	0	0	27	100 (94,6 - 100)	100 (87,2 - 100)	100 (96,1 - 100)
	Orina	Mujeres	47	24	0	0	23	100 (85,8 - 100)	100 (85,2 - 100)	100 (92,5 - 100)
		Hombres	70	60	1	0	9	98,4 (91,2 - 100)	100 (66,4 - 100)	98,6 (92,3 - 100)
	PreservCyt	Mujeres	34	28	0	0	6	100 (87,7 - 100)	100 (54,1 - 100)	100 (89,7 - 100)
Asint.	Torunda	Mujeres*	41	23	0	1[1]	17	100 (85,2 - 100)	94,4 (72,7 - 99,9)	97,6 (87,1 - 99,9)
		Hombres	40	7	0	0	33	100 (59,0 - 100)	100 (89,4 - 100)	100 91,2 - 100)
	Orina	Mujeres	25	9	0	1	15	100 (66,4 - 100)	93,8 (69,8 - 99,8)	96,0 (79,6 - 99,9)
		Hombres	60	5	0	0	55	100 (47,8 - 100)	100 (93,5 - 100)	100 (94,0 - 100)
	PreservCyt	Mujeres	17	12	0	0	5	100 (73,5 - 100)	100 (47,8 - 100)	100 (80,5 - 100)

«+» indica un resultado positivo, «-» un resultado negativo, IC = intervalo de confianza.
*Muestras de torundas vaginales y endocervicales combinadas.
[1]Una discordancia en torunda vaginal.

Tabla 12: Estudio de concordancia de las muestras clínicas: concordancias positivas, negativas y generales por estado de síntomas (continuación)

Síntoma	Muestra	Sexo	N	DTS+ TIGRIS+	DTS+ TIGRIS-	DTS- TIGRIS+	DTS- TIGRIS-	% de concordancia positiva (IC 95%)	% de concordancia negativa (IC 95%)	% concordancia general (IC 95%)
Todos	Torunda	Mujeres*	129	78	0	1[1]	50	100 (95,4-100)	98,0 (89,6-100)	99,2 (95,8-100)
		Hombres	133	73	0	0	60	100 (95,1-100)	100 (94,0-100)	100 (97,3-100)
	Orina	Mujeres	72	33	0	1	38	100 (89,4-100)	97,4 (86,5-99,9)	98,6 (92,5-100)
		Hombres	130	65	1	0	64	98,5 (91,8-100)	100 (94,4-100)	99,2 (95,8-100)
	PreservCyt	Mujeres	51	40	0	0	11	100 (91,2-100)	100 (71,5-100)	100 (93,0-100)

«+» indica un resultado positivo, «-» un resultado negativo, IC = intervalo de confianza.
*Muestras de torundas vaginales y endocervicales combinadas.
[1]Una discordancia en torunda vaginal.

Estudio de precisión

El efecto de varios factores en la variabilidad del rendimiento del ensayo APTIMA GC en el TIGRIS DTS System se evaluó utilizando paneles de reproducibilidad de ETS de 12 muestras. Las muestras del panel contenían de 0 a 250.000 fg GC rRNA/ensayo. El panel incluía muestras con concentraciones de GC a la sensibilidad analítica declarada de 250 fg GC rRNA/ensayo.

Los paneles se analizaron en 1 centro de análisis externo y en Gen-Probe usando 2 lotes de reactivos de ensayo APTIMA GC. En Gen-Probe, 2 usuarios realizaron cada uno 3 listas de trabajo válidas por lote de reactivo en 2 instrumentos TIGRIS DTS System por separado. En el centro de análisis externo, 2 usuarios realizaron cada uno 3 listas de trabajo válidas por lote de reactivo en 1 instrumento TIGRIS DTS System. Una lista de trabajo consistía de controles de ciclo y seis paneles de 12 muestras. Las muestras con resultados iniciales no válidos o equívocos de listas de trabajo del ensayo válidas no se volvieron a analizar. Once muestras tuvieron resultados finales no válidos y se excluyeron de los análisis de reproducibilidad.

La reproducibilidad se determinó calculando la concordancia entre los resultados finales del ensayo y el resultado esperado para cada muestra del panel. La reproducibilidad también se evaluó calculando la SD y el coeficiente de variación (CV) de la señal con respecto a centros, usuarios, lotes y listas de trabajo. No se calcularon los CV de muestras del panel GC negativos debido a valores de señal bajos que podrían ser teóricamente iguales a cero. La tabla 13 presenta los resultados de reproducibilidad. Todos los resultados del ensayo APTIMA CG en el TIGRIS DTS System concordaron con los resultados esperados para muestras del panel con contenido de 0, 250, 25.000 y 250.000 fg GC rRNA/ensayo. Para muestras del panel con 2.500 fg GC rRNA/ensayo, la concordancia con los resultados esperados fue del 99,8%. Los valores de CV fueron inferiores o iguales al 9,0%. Estos datos indican una reproducibilidad buena del ensayo APTIMA GC utilizando el TIGRIS DTS System.

Tabla 13: Datos de precisión del TIGRIS DTS System

Conc (fg rRNA por ensayo)	N	RLU media (x1000)	% concor-dancia	Entre-centro		Entre-usuario		Entre-lote		Entre-lista de trabajo		Dentro-lista de trabajo	
				SD (x1.000)	% CV	SD[1] (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV
0	859[2]	4,6	100	1,7	N/C	0,0	N/C	0,3	N/C	0,7	N/C	2,7	N/C
250	429[3]	4.148	100	236	5,7	170	4,1	212	5,1	94,9	2,3	222	5,3
2.500	429[4]	5.361	99,8	275	5,1	145	2,7	273	5,1	25,1	0,5	482	9,0
25.000	430[5]	5.871	100	325	5,5	163	2,8	303	5,2	106	1,8	176	3,0
250.000	431[6]	6.037	100	317	5,2	167	2,8	303	5,0	126	2,1	186	3,1

Concord = Concordancia, Conc = Concentración, CV = Coeficiente de variación, N/C = No corresponde para muestras negativas, RLU = Unidades relativas de luz, SD = Desviación estándar.

[1] Los valores de SD y CV se establecen en 0 y 0,0%, respectivamente, de acuerdo con el modelo de efectos aleatorios, si la variabilidad debida a esta fuente en relación con los errores aleatorios y/o la variación de otras fuentes es numéricamente negativa.

[2] Se excluyeron 4 muestras de este análisis por resultados finales no válidos. Además, en una lista de trabajo faltaba 1 réplica de cada muestra de un panel negativo para GC.

[3] Se excluyeron 3 muestras de este análisis por resultados finales no válidos.

[4] Se excluyeron 2 muestras de este análisis por resultados finales no válidos. Además, en dos listas de trabajo faltaba 1 réplica de cada muestra de un panel con 2.500 fg rRNA de GC/ensayo y una lista de trabajo incluía 1 réplica adicional de una muestra del panel con 2.500 fg rRNA de GC/ensayo.

[5] Se excluyeron 2 muestras de este análisis por resultados finales no válidos. Además, una lista de trabajo incluyó 1 réplica adicional de una muestra del panel con 25.000 fg rRNA de GC/ensayo. En la misma lista de trabajo faltaba 1 réplica de otra muestra del panel con 25.000 fg rRNA de GC/ensayo.

[6] En una lista de trabajo faltaba 1 réplica de una muestra del panel con 250.000 fg de rRNA de GC/ensayo.

Nota: Las muestras con resultados de prueba no válidos se excluyeron. El análisis de variabilidad de la señal incluye muestras con resultados discordantes.

Rendimiento analítico del TIGRIS DTS System

Consulte el rendimiento analítico específico del sistema PANTHER en el apartado *Rendimiento analítico del sistema PANTHER*.

Estudio de equivalencia de la sensibilidad analítica

Los paneles de sensibilidad en mezcla de torundas endocervicales, mezcla de muestras vaginales, mezcla de muestras de orina, y mezcla de muestras de Pap en medio líquido PreservCyt se prepararon a rRNA de GC de 250 fg/ensayo y con ellos se analizaron 60 réplicas en el TIGRIS DTS System. El porcentaje de positivos (IC 95%) en el TIGRIS DTS System para la muestra de torunda endocervical fue del 100% (95,1 - 100), para la muestra de torunda vaginal fue del 100% (95,1 - 100), para la muestra de orina fue del 100% (95,1 - 100) y para la muestra de Pap en medio líquido PreservCyt fue del 100% (95,1 - 100).

Estudio de panel clínico enriquecido con rRNA de GC

El estudio del panel clínico enriquecido de rRNA de GC evaluó la concordancia entre los dos sistemas utilizando seis paneles clínicos de GC preparados por Gen-Probe enriquecidos con 0 a 250.000 fg rRNA/ensayo de GC. Los paneles clínicos de GC se crearon a partir de muestras de torunda endocervical, torunda vaginal, torunda uretral, orina masculina, orina femenina y Pap en medio líquido PreservCyt que dieron resultados negativos para el ensayo APTIMA GC en los sistemas DTS cuando se analizaron en Gen-Probe. Las muestras negativas se mezclaron por tipo de muestra, se enriquecieron o no con rRNA de GC, y se dividieron en alícuotas como réplicas de cada muestra del panel. Las réplicas de cada una de las 6 muestras del panel con diferentes niveles de rRNA enriquecido se combinaron para crear un panel clínico para cada tipo de muestra. Cada panel contenía un total de 132 réplicas.

Los datos iniciales de orina masculina y femenina muestran que algunas muestras del panel que contenían rRNA a un nivel inferior a la sensibilidad analítica declarada dieron resultados negativos inesperados en el TIGRIS DTS System. Se llevaron a cabo dos estudios de seguimiento para demostrar y confirmar la concordancia con los resultados esperados en paneles de orina masculina y femenina enriquecidos. El diseño original del estudio combinaba muestras negativas en una sola mezcla maestra. Se enmendó el diseño del estudio de seguimiento para muestras de orina masculinas y femeninas. Las muestras se dividieron en alícuotas en minimezclas negativas confirmadas para formar paneles positivos y negativos. Se crearon ciento treinta y ocho réplicas para cada panel.

La tabla 14 presenta el porcentaje de concordancia para cada nivel de rRNA en los paneles de torunda endocervical, torunda vaginal, torunda uretral, orina masculina, orina femenina y Pap en medio líquido PreservCyt, respectivamente, con los resultados GC esperados para el TIGRIS DTS System y para los sistemas DTS. La concentración abarcó desde 1 logaritmo por debajo hasta 3 logaritmos por encima de 250 fg rRNA/ensayo para GC. En la tabla 14 también se indican los porcentajes de concordancia general del estudio de paneles clínicos entre el TIGRIS DTS System y los sistemas DTS.

Tabla 14: Estudio de concordancia de panel clínico enriquecido con rRNA de GC

Muestra		Muestra del panel	Concentración (fg rRNA/ensayo)	Réplicas	% de concor-dancia TIGRIS	% de concor-dancia DTS	Porcentaje de concordancia general entre TIGRIS y DTS (IC 95%)
Torunda	Endocervical	Sin diana	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
		Muy baja	25	30	100	100	
		Baja	250	30	100	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	
	Vaginal	Sin diana	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
		Muy baja	25	29*	100	100	
		Baja	250	30	100	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	
	Uretral	Sin diana	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
		Muy baja	25	30	100	100	
		Baja	250	30	100	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	
Orina masculina	Estudio inicial	Sin diana	0	12	100	100	91,7 (85,6 - 95,8)
		Muy baja	25	30	63,3 (19/30)	100	
		Baja	250	30	100	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	
	Seguimiento 1	Sin diana	0	18	100	100	100 (97,4 - 100)
		Muy baja	25	30	100	100	
		Baja	250	30	100	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	
	Seguimiento 2	Sin diana	0	18	100	100	100 (97,4 - 100)
		Muy baja	25	30	100	100	
		Baja	250	30	100	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	

*No analizadas en los dos sistemas debido a un volumen insuficiente de la muestra

Tabla 14: Estudio de concordancia de panel clínico enriquecido con rRNA de GC (continuación)

Muestra		Muestra del panel	Concentración (fg rRNA/ensayo)	Réplicas	% de concordancia TIGRIS	% de concordancia DTS	Porcentaje de concordancia general entre TIGRIS y DTS (IC 95%)
Orina femenina	Estudio inicial	Sin diana	0	12	100	100	75,8 (67,5 - 82,8)
		Muy baja	25	30	13,3 (4/30)	100	
		Baja	250	30	80 (24/30)	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	
	Seguimiento 1	Sin diana	0	18	100	100	99,3 (96,0 - 100)
		Muy baja	25	30	96,7 (29/30)	100	
		Baja	250	30	100	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	
	Seguimiento 2	Sin diana	0	18	100	100	97,8 (93,8 - 99,5)
		Muy baja	25	30	90 (27/30)	100	
		Baja	250	30	100	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	
Pap en medio líquido PreservCyt		Sin diana	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
		Muy baja	25	30	100	100	
		Baja	250	30	100	100	
		Media	2.500	30	100	100	
		Alta	250.000	30	100	100	

*No analizadas en los dos sistemas debido a un volumen insuficiente de la muestra

Estudio de equivalencia de la especificidad analítica

Para un ensayo de amplificación de ácidos nucleicos, la especificidad analítica con respecto a organismos individuales está en gran medida determinada por la química del ensayo (por ejemplo, las secuencias oligonucleótidas) más que por la plataforma. Dado que los reactivos del ensayo APTIMA GC son idénticos entre el TIGRIS DTS System y los sistemas DTS, los experimentos de especificidad analítica del TIGRIS DTS System se diseñaron para centrarse en los aislados de cultivo más desafiantes. Estos organismos incluían los conocidos por sus reacciones cruzadas en otros ensayos de amplificación. Se seleccionaron 24 aislados de cultivo del panel de organismos de la tabla 11, incluidos 17 organismos que están íntimamente relacionados con GC. Todos los organismos analizados dieron resultados negativos con la excepción de un (1/648) resultado positivo falso. Esto se observó con *C. pneumoniae*, donde 1 de 27 réplicas analizadas dio un resultado falso. La repetición de la prueba no apoyó la reactividad cruzada con este organismo *(C. pneumoniae)*, ya que no se observaron pruebas positivas con 6 réplicas de la prueba adicionales.

Estudio de equivalencia de las substancias interferentes

Se utilizó sangre completa, una sustancia frecuentemente hallada en las muestras urogenitales y que se sabe que interfiere en algunos ensayos de amplificación, para establecer que el TIGRIS DTS System tolera niveles semejantes de sustancias potencialmente interferentes a los sistemas DTS. Se añadió sangre nueva a mezclas de muestras de torundas clínicas, torundas vaginales, orina y Pap en medio líquido PreservCyt, luego se analizaron para determinar la posible interferencia en el ensayo en ausencia y presencia de GC seleccionado al equivalente de rRNA estimado de 50 CFU GC/ensayo (250 fg/ensayo). Los equivalentes rRNA se calcularon en función del tamaño del genoma y de la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo. Las muestras se analizaron en dos TIGRIS DTS Systems. Todas las muestras que contenían ácido nucleico seleccionado dieron positivo al analizarse a una concentración del 10% de sangre en muestras de torunda, muestras de torunda vaginal o muestras de Pap en medio líquido PreservCyt, y del 30% de sangre en muestras de orina. Todas las muestras que no contenían la diana dieron negativo para GC. Estos resultados indican que, a los niveles analizados, no es probable que la sangre completa afecte al resultado GC en el TIGRIS DTS System.

Estudios de arrastre para el TIGRIS DTS System

Para establecer que el TIGRIS DTS System reduce al mínimo el riesgo de resultados positivos falsos provocados por contaminación de arrastre, se realizó un estudio utilizando paneles enriquecidos en tres TIGRIS DTS Systems. El estudio utilizó un 20% de muestras GC con una diana alta y con un contenido de 1,0 x 10^9 células/reacción, que se distribuyeron aleatoriamente entre un 80% de muestras negativas con un contenido de medios de transporte de torunda. A lo largo del estudio se analizaron 576 muestras de diana alta y 2.376 muestras negativas en los tres TIGRIS DTS Systems. La tabla 15 presenta la proporción de arrastre general promediada a 0,21% (5/2.370). Un total de 6 muestras negativas se registraron como no válidas y se excluyeron del cálculo. Se realizó un análisis independiente de un subconjunto de la población del estudio compuesto por las muestras negativas que siguieron inmediatamente a un resultado positivo alto. La proporción de arrastre para este subconjunto de la población se promedió a 0,95% (4/422). Para los resultados positivos falsos en este subconjunto, la proporción de arrastre abarcó desde el 0% al 2,16% en los tres TIGRIS DTS Systems. Estos resultados demuestran que la contaminación de arrastre se reduce al mínimo en el TIGRIS DTS System.

Tabla 15: Resumen de arrastre general del TIGRIS DTS System

Instrumento	Nº de pruebas negativas válidas	Nº total de resultados positivos falsos GC	% resultados positivos falsos para GC	Intervalos de confianza (IC 95%)
TIGRIS 1	787	0[a]	0,00	0,00 - 0,38
TIGRIS 2	791	1[b]	0,13	0,00 - 0,70
TIGRIS 3	792	4[c]	0,51	0,14 - 0,29
Todos los instrumentos	2.370	5	0,21	0,07 - 0,49

a. TIGRIS DTS System 1 no tuvo ningún resultado positivo GC falso directamente después de un positivo de diana alta.

b. TIGRIS DTS System 2 tuvo un resultado positivo GC falso directamente después de un positivo de diana alta.

c. TIGRIS DTS System 3 tuvo tres resultados positivos GC falsos directamente después de un positivo de diana alta.

Rendimiento analítico del sistema PANTHER

Estudio de concordancia de panel clínico enriquecido

Las muestras de orina negativas individuales se enriquecieron con GC para crear un panel de 120 muestras GC positivas. Muestras del panel positivo de GC se enriquecieron con organismos a 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL o 1.250 CFU/mL (25 fg/ensayo, 250 fg/ensayo o 2.500 fg/ensayo). Además, se recogieron 120 muestras de orina negativas para GC. Los paneles positivos y negativos se analizaron en tres sistemas PANTHER y tres TIGRIS DTS Systems. El porcentaje de concordancia positiva entre el sistema PANTHER y el TIGRIS DTS System fue del 100% con un límite inferior para el intervalo de confianza de 95% de 98,9. El porcentaje de concordancia negativa entre el sistema PANTHER y los TIGRIS DTS System fue del 100% con un límite inferior para el intervalo de confianza de 95% de 98,9. Los resultados del estudio se muestran en la tabla 16.

Tabla 16: Estudio de concordancia de panel clínico enriquecido: concordancia con los resultados esperados de GC

Muestra del panel	Concentración		Réplicas	TIGRIS % concordancia	PANTHER % concordancia
	CFU/mL	fg/ensayo			
Positiva muy baja	12,5	25	117	100	100
Positiva baja	125	250	120	100	100
Positiva media	1.250	2.500	120	100	100
Negativo	0	0	360	100	100

Porcentaje de concordancia general positiva entre el TIGRIS DTS System y el sistema PANTHER (IC 95%): 100% (98,9-100).
Porcentaje de concordancia general negativa entre el TIGRIS DTS System y el sistema PANTHER (IC 95%): 100% (98,9–100).

Estudio de sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del ensayo APTIMA GC se probó utilizando tres matrices de muestras representativas. Estos fueron orina procesada con medio de transporte de orina (Urine Transport Medium, UTM), solución de Pap en medio líquido PreservCyt diluida con medio de transporte de torunda (Swab Transport Medium, STM) y STM. Se añadió rRNA de GC a mezclas de estas tres matrices a las concentraciones siguientes: 25 fg/ensayo, 250 fg/ensayo y 2.500 fg/ensayo (equivalentes de rRNA de 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL o 1.250 CFU/mL). Los equivalentes de rRNA se calcularon en función del tamaño del genoma y de la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo. Estos paneles se analizaron en tres instrumentos PANTHER utilizando dos lotes de reactivos en réplicas de 96.
Se calculó la concordancia positiva con el resultado esperado. La concordancia con los resultados esperados fue del 100% (IC 95%, 96,2 - 100%) para todos los paneles de orina, del 100% (IC 95%, 96,2 - 100%) para todos los paneles de solución Pap en medio líquido PreservCyt, y del 100% (IC 95%, 96,1 - 100%) para todos los paneles de STM.
La sensibilidad analítica para el ensayo es 125 CFU/mL.

Estudio de reproducibilidad

La precisión del ensayo APTIMA GC se evaluó con tres sistemas PANTHER y dos lotes de kit de ensayo APTIMA GC durante un período de 24 días. Se crearon paneles añadiendo rRNA de GC en STM a las concentraciones indicadas en la tabla 17. Los usuarios realizaron dos ciclos por día analizando cada muestra del panel en réplicas de dos por ciclo. El cálculo de la concordancia con el resultado esperado y la estimación de la precisión se realizaron de acuerdo con las directrices NCCLS EP5-A2 (14). El número total de réplicas para cada panel fue 96. La tabla 17 presenta los datos RLU de precisión en términos de media, desviación estándar, coeficiente de variación (CV), porcentaje de concordancia con los resultados esperados y cálculos de variabilidad entre-instrumento, entre-lote, entre-ciclo y dentro-ciclo.

Tabla 17: Precisión del sistema PANTHER para el ensayo APTIMA GC

Matriz	GC (CFU/mL)	N	RLU media (x1.000)	% concor-dancia	Entre-instrumento		Entre-lote		Entre-ciclo		Dentro-ciclo		Total	
					SD (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV	SD (x1.000)	% CV
STM	0	96	3	100	0	0	0	0	0	0	2,01	72,8	2	72,5
	12,5	96	3.951	100	215,14	5,4	0	0	0	0	568,24	14,4	607,6	15,4
	125	95*	5.839	100	370,17	6,3	0	0	0	0	772,58	13,2	856,7	14,7
	1.250	96	6.207	100	338,25	5,4	0	0	0	0	787,64	12,7	857,2	13,8
Orina	0	95*	3	100	0,69	21,6	0,81	25,5	0,77	24,2	2,43	76,3	2,8	87,8
	12,5	96	3.460	100	0	0	195,84	5,7	113,27	3,3	207,53	6	307	8,9
	125	96	6.047	100	158,67	2,6	170,32	2,8	0	0	206,24	3,4	311	5,1
	1.250	96	6.737	100	218,35	3,2	238,49	3,5	66,22	1	176,72	2,6	374,4	5,6
PreservCyt	0	95*	6	100	1,9	33,6	0	0	0,54	9,5	5,96	105,2	6,3	111,2
	12,5	96	3.358	100	257,9	7,7	0	0	0	0	485,45	14,5	549,7	16,4
	125	96	5.272	100	243,09	4,6	201,89	3,8	0	0	751,72	14,3	815,4	15,5
	1.250	96	5.945	100	355,95	6	51,06	0,9	0	0	759,35	12,8	840,2	14,1

Nota: La variabilidad de algunos factores podría ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto sucede, SD=0 y CV=0%.

* el n de 95 indicó 1 réplica no válida de un total de 96 que no se volvió a analizar.

Especificidad analítica

La especificidad analítica no se probó en el instrumento PANTHER. Consulte *Rendimiento analítico del TIGRIS DTS System* para el *Estudio de equivalencia de la especificidad analítica*.

Estudio de equivalencia de las substancias interferentes

La sangre normalmente hallada en muestras genitourinarias podría interferir en algunos ensayos de amplificación. Se utilizó sangre completa para establecer el grado de interferencia de la sangre en el sistema PANTHER con respecto a este posible interferente. Se añadió sangre nueva a mezclas clínicas de muestras de torunda vaginal, muestras de Pap en medio líquido PreservCyt post-procesadas o muestras de orina y luego se analizaron para determinar la posible interferencia en el ensayo en presencia y ausencia de GC seleccionado. El equivalente de rRNA estimado de 125 GC CFU/mL (250 fg/ensayo) se utilizó como la concentración diana ya que éste representa la sensibilidad analítica del ensayo. Las muestras se analizaron en el sistema PANTHER. Todas las muestras que contenían ácido nucleico seleccionado dieron positivo al analizarse a una concentración del

10% (vol/vol) de sangre en muestras de torunda o de Pap en medio líquido PreservCyt, o del 30% (vol/vol) de sangre en muestras de orina. Todas las muestras que no contenían la diana se identificaron correctamente como negativas. Estos resultados son idénticos a los demostrados para el TIGRIS DTS System cuando se enriquecen con las mismas cantidades de sangre. La sangre añadida a las muestras de torunda, PreservCyt y de orina a concentraciones mucho más altas de lo que podría esperarse con la obtención normal de muestras, no interfirió con los resultados en el sistema PANTHER.

Estudios de arrastre para el sistema PANTHER

Para establecer que el sistema PANTHER reduce al mínimo el riesgo de resultados positivos falsos provocados por contaminación de arrastre, se realizó un estudio analítico de varios ciclos utilizando paneles enriquecidos en tres sistemas PANTHER. El arrastre se evaluó utilizando aproximadamente un 20% de muestras de GC de título elevado dispersadas entre muestras negativas. Los ciclos incluyeron grupos de muestras positivas altas con grupos de muestras negativas así como muestras positivas altas individuales dispersadas en un patrón específico dentro del ciclo. Se hicieron muestras de título elevado utilizando rRNA de GC añadido a STM para dar una concentración final de 5 x 10^5 fg rRNA/reacción (equivalente de rRNA de 2,5 x 10^5 CFU/mL). Las pruebas se llevaron a cabo utilizando 5 ciclos en tres sistemas PANTHER con un total de 2.923 muestras negativas. La proporción de arrastre general fue del 0% con un intervalo de confianza del 95% de 0 - 0,1%. Un total de 17 muestras negativas de ciclos de título elevado se registraron como no válidas y se excluyeron del cálculo.

Bibliografía

1. **Centers for Disease Control and Prevention**. 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. **51** (RR-15).
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
3. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. **33**:3111-3114.
4. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen Processing and Concentration of *Chlamydia trachomatis* Added Can Influence False-Negative Rates in the LCx Assay but Not in the APTIMA Combo 2 Assay When Testing for Inhibitors. J. Clin. Microbiol. **41**:778-782.
5. **CUMITECH 31**. Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory.- ASM PRESS, FEBRUARY 1997.
6. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. **37**:386-390.
7. **Gaydos, C. A., T. C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the APTIMA Combo 2 Assay for Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Female Urine and Endocervical Swab Specimens. J. Clin. Microbiol. **41**:304-309.
8. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander**. 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM **292**:1199-1205.
9. **Hook III, E. W. and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. p. 458. In K. Holmes et. al. (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, N.Y.
10. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. J. Clin. Microbiol. 4:288-295.
11. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. Semin. Arthritis Rheum. **10**:173.
12. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
13. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. NCCLS EP12-A. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline for additional guidance on appropriate internal quality control testing practices.
14. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).

15. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, J. Clin. Microbiol. **35**:957-959.
16. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
17. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. Chlamydial infections. Ann. Rev. Med. **32**:45-61.
18. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). NEJM **298**:540-549.
19. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. Am. J. Obstet. Gynecol. **123**:753-757.
20. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee**. 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. J. Clin. Microbiol. **36**:2666-2670.
21. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. J. Clin. Microbiol. **36**:2356-2358.
22. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. J. Clin. Microbiol. **34**:3072-3074.
23. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. J. Clin. Microbiol. **37**:74-80.



Gen-Probe Incorporated
San Diego, CA 92121

Información de contacto para EE.UU. e internacional:
Atención al cliente: +1 858 410 8002
customerservice@gen-probe.com
Servicio técnico: +1 858 410 8511
technicalsupport@gen-probe.com

Llamadas gratis desde EE.UU. y Canadá:
Atención al cliente: +1 800 523 5001
Servicio técnico: +1 888 484 4747

www.gen-probe.com

EC REP

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, La Haya
Países Bajos



502185ES Rev. E
2013-06